UNIVERSITÉ PAUL SABATIER, TOULOUSE
U.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES
ANNEE 1971 N° 55

SUR LA DIFFUSION CÉRÉBRALE DU BORE APRÈS ADMINISTRATION DES ACIDES TOLYLBORONIQUES

THÈSE

pour le Doctorat en Pharmacie
Diplôme d'État

présentée et soutenue publiquement le 3 juillet 1971

PAR

Ghislaine DOUSSET
née Lardier

Pharmacien
diplômée d'Études supérieures de Pharmacodynamie technique
et de Toxicologie et Hygiène industrielle
Ingénieur A_3 au C.N.R.S.

Membres du Jury

M. CAUJOLLE	*Président*
M^me^ CAUJOLLE	*Assesseurs*
M. BOUISSOU	
M. PITET	
M. SOULA	*Suppléant*

J.F. EDITIONS
TOULOUSE
1971

UNIVERSITÉ PAUL SABATIER

118, route de Narbonne
31-TOULOUSE

TABLEAU DU PERSONNEL

UNITÉ E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Président de l'Université : M. Lareng
1er Vice-Président : M. Mathis
Directeur de l'Unité : M. Breuillaud
Doyens honoraires : MM. Lazorthes, Brustier
Professeurs honoraires : MM. Delas, Vincent, Mme Dulucq

Botanique et Cryptogamie	MM.	N...
Chimie Analytique		Pitet
Toxicologie, Hygiène industrielle et Hydrologie		Bourbon
Chimie pharmaceutique		Blanc
Microbiologie		Breuillaud
Pharmacie chimique et Pharmacodynamie		Caujolle
Pharmacie galénique et Matière médicale		Stanislas
Physiologie, Zoologie et Parasitologie pharmaceutique		Roux

Professeurs à titre personnel

Pharmacie	MM.	Couturier
Sciences Naturelles	Mme	Caujolle
Toxicologie		Broussy (G.)

Professeur sans chaire

Chimie organique	MM.	Bertrand
Zoologie		Gayrel
Botanique	Mme	Lascombes

Maîtres de conférences agrégés

Microbiologie	MM.	Michel
Pharmacodynamie		Cros
Physiologie		Dumas
Pharmacie galénique		Rouffiac
Chimie biologique		Soula
Toxicologie		Malbosc

Secrétaire Général de l'Université : M. Prineau (J. P.)

L'Université déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.

UNIVERSITÉ PAUL SABATIER, TOULOUSE
U.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES
ANNEE 1971 N° 55

SUR LA DIFFUSION CÉRÉBRALE DU BORE APRÈS ADMINISTRATION DES ACIDES TOLYLBORONIQUES

THÈSE

pour le Doctorat en Pharmacie
Diplôme d'État

présentée et soutenue publiquement le 3 juillet 1971

PAR

Ghislaine DOUSSET
née Lardier

Pharmacien
diplômée d'Études supérieures de Pharmacodynamie technique
et de Toxicologie et Hygiène industrielle
Ingénieur A_3 au C.N.R.S.

Membres du Jury :
- M. CAUJOLLE — *Président*
- Mme CAUJOLLE, M. BOUISSOU, M. PITET — *Assesseurs*
- M. SOULA — *Suppléant*

J.F. EDITIONS
TOULOUSE
1971

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

AVANT-PROPOS

Tradition et sentiments demandent que mes premiers mots soient pour redire aux miens ma profonde affection :

à mon mari Jean-Claude et à mes enfants Jean-Luc et Nathalie,

à mes parents et grands-parents, qui m'ont faite ce que je suis, en particulier mon grand-père, dont la vocation scientifique désintéressée a toujours été pour moi un exemple et qui, encore à cette heure, continue à ajouter de nouvelles pages à l'œuvre originale de ses quelque 500 mémoires et publications,

à mes beaux-parents,

à ma famille tout entière.

⁂

Au seuil de ces pages, il sied d'inscrire en hommage liminaire les noms respectés et aimés de ceux à qui doit aller ma reconnaissance.

M. le Professeur Fernand Caujolle, Membre non résidant de l'Académie de Pharmacie, Correspondant national de l'Académie de Médecine, Professeur de Pharmacie chimique et de Pharmacodynamie à la Faculté de Pharmacie de Toulouse, Directeur du Centre de Recherches sur les Toxicités, Officier de la Légion d'honneur, est à l'origine de mon orientation scientifique. Il m'a accueillie dans ses laboratoires, où il a constitué autour de lui une école toulousaine du Bore : j'ai eu ainsi à apporter ma pierre à la connaissance des organo-boriques. Mon Maître a mis à ma disposition tous les importants moyens de son Centre et, plus que tout, son ardeur à m'encourager sur la voie de l'effort productif. Sa science se double d'une attention éclairée pour qui travaille. Je lui dois vraiment beaucoup et suis heureuse de l'affirmer ici avec déférence.

M^me^ le Professeur D. CAUJOLLE-MEYNIER, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Toulouse, a sa présence de droit dans mon Jury de thèse. Ayant été mon chef de service dès mon entrée au Centre, elle a guidé mes premiers pas dans les techniques de laboratoire et dans l'organisation du travail. La sympathie qu'elle m'a toujours témoignée justifie ma gratitude la plus grande.

M. le Professeur BOUISSOU, Professeur d'Anatomie pathologique du Centre, me fait l'honneur d'inscrire son nom dans mon Jury. Je lui en exprime mes remerciements bien réels.

M. le Professeur PITET, Professeur de Chimie analytique à notre Faculté de Pharmacie, Directeur du Service de Physique - Chimie du Centre de Toxicités, avait, lui aussi, sa place ici, pour une thèse dont les résultats reposent sur les mesures spectrographiques, dont il est un spécialiste reconnu. Je suis sensible à la marque de son estime et lui en exprime un profond merci.

M. le Professeur SOULA, Professeur de Biochimie à la Faculté de Pharmacie de Toulouse, a bien voulu permettre de l'inscrire dans mon Jury, où il apporte son expérience des questions de Chimie biologique, si précieuse pour les contacts multiples que mon travail a eus avec cette discipline. Mes remerciements iront à lui, ici, bien sincères. .

Ma pensée se tourne vers tous ceux qui m'ont dispensé leur savoir au cours de mes études : d'abord mon Maître de stage, M. CABANETTES, pharmacien à Toulouse, qui eut à mon égard une sollicitude que je ne suis pas près d'oublier, — puis, durant mes quatre années de Faculté, tous mes Maîtres, Professeurs, Maîtres de Conférences, Chefs de Travaux, dont les enseignements m'ont été si profitables.

Le Docteur-Vétérinaire G. FAURE, qui a la responsabilité technique des Animaleries du Centre et dont les précieuses qualités professionnelles sont du même plan que ses qualités humaines, mérite ma reconnaissance la plus sentie pour le zèle et la patience persévérante avec lesquels il a satisfait mes si nombreux besoins d'animaux d'expériences, — et cela dans des conditions parfois délicates de poids de sujets ou d'obtention d'états physiologiques bien définis. Il se dépense sans compter. On ne soupçonne pas assez ce que cela cache d'efforts opiniâtres et d'esprit de suite, ignorés de qui ne fait que passer dans un laboratoire et trouve normal de le voir parfaitement approvisionné.

Le Personnel du Centre de Recherches sur les Toxicités a à recevoir tout entier mes remerciements. Car chacun, quel que soit son rang, y sert la science à sa manière. Je ne peux que mentionner ceux qui m'ont rendu le plus de services :

— ma collaboratrice la plus immédiate, Mme J. MANENT, technicienne des plus averties, ainsi que M. DELOLY, qui m'a aidée pour procéder aux prélèvements délicats;

— au Service d'Anatomie pathologique, M^me^ le D^r^ PIERAGGI et M^lle^ le D^r^ M. C. VOISIN, chefs de laboratoire, qui ont examiné les coupes histologiques, sans oublier M^me^ FOULQUIER, qui a fait les inclusions;

— au Service de Physique, M. J. OUSTRIN, docteur ès sciences, ingénieur au C.N.R.S., dans le laboratoire duquel on effectue les dosages par spectrographie d'émission, et M. André ROUQUIÉ, qui m'a facilité la connaissance et la pratique de cette méthode;

— au Laboratoire de Synthèse chimique, M. DANG QUOC QUAN, docteur ès sciences, chargé de recherches au C.N.R.S., qui a préparé les tolylboroniques avec lesquels j'ai procédé aux expérimentations;

— M^me^ R. GUETAT, puis M^lle^ N. PATEZ, documentalistes et bibliothécaires, traductrices précieuses dont l'éventail linguistique s'étend jusqu'au russe;

— M^me^ HEURTAUX, qui assure avec grand dévouement et compétence le service, que nous lui rendons souvent si délicat, du Secrétariat.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536520_0032

PREMIÈRE PARTIE

TECHNIQUES GÉNÉRALES

SOMMAIRE DES CHAPITRES DE LA PREMIÈRE PARTIE

Chapitre I :

Techniques chimiques.

Chapitre II :

Techniques biologiques.

Chapitre I

TECHNIQUES CHIMIQUES

LES SUBSTANCES EXPÉRIMENTÉES

Les acides boriques, qui sont à la base de toute étude pharmacologique du bore, sont des corps connus de longue date. Ils dérivent de l'hydratation de l'anhydride borique B_2O_3. Les mieux identifiés d'entre eux sont :

— Le métaborique : B_2O_3, H_2O;
— L'orthoborique : B_2O_3, $3H_2O$;
— Le bi-pyro ou tétraborique : B_2O_3, H_2O.

Les sels correspondants constituent les borates; leur connaissance, tant chimique que physiologique, a été maintes fois mise au point (Gout 1968). L'acide borique n'est pas le but essentiel de notre travail, nous l'utiliserons à titre de comparaison d'action physiologique; nous renvoyons au travail déjà cité, sans nous appesantir davantage sur ses propriétés biologiques.

L'action sur le système nerveux des acides tolylboroniques ou toluylboroniques constitue le but essentiel de nos recherches. Les dérivés tolylboroniques que nous avons utilisés ont été préparés dans le laboratoire de Pharmacie chimique de la Faculté de Pharmacie de Toulouse, par MM. Dang, Raymond Caujolle et Sournies.

Le principe de la préparation réside dans l'action du tolylbromure magnésien sur le borate de N butyle, suivi d'hydrolyse :

$CH_3.C_6H_4.Br + Mg$ (par l'éther anhydre) $\rightarrow CH_3.C_6H_4.Mg\ Br$

$CH_3.C_6H_4.Mg\ Br + B\ (O\ Bu)_3$ (à — 70°) $\rightarrow CH_3.C_6H_4.B\ (O\ Bu)_2$

$CH_3.C_6H_4.B\ (O\ Bu)_2 + 2\ H_2O \rightarrow CH_3.C_6H_4.B\ (OH)_2$ [acide]

Le mode opératoire est essentiellement celui utilisé par Bean et Johnson (1932) et dont le schéma est réindiqué notamment par Torssell (1964) :

— Addition progressive du bromomagnésien sur le borate de N butyle dans l'éther anhydre, à — 70° (3 heures), puis à + 2° (une nuit);
— Hydrolyse acide;
— Extraction éthérée;

— Evaporation, qui fournit l'acide boronique brut, mélangé de Bu OH;
— Addition de potasse aqueuse;
— Evaporation de l'azéotrope Bu $OH.H_2O$;
— Neutralisation avec de l'acide;
— Cristallisation.

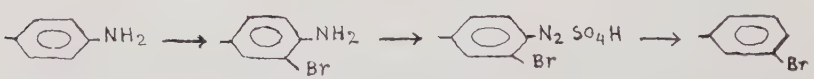
Les départs de préparation sont difficiles, parce que la préparation du bromotoluène est, elle-même, difficile : il ne peut être obtenu que par des méthodes indirectes. Le bromotoluène est une étape, pour obtenir le bromure magnésien qui sera condensé dans l'éther anhydre avec le borate de N butyle.

Les bromotoluènes sont préparés, soit par bromuration du toluène soit, mieux, à partir des toluidines, suivant la méthode classique indiquée par Bigelon, dans Synthèses organiques : diazotation et décomposition.

a) Acide orthotolylboronique :

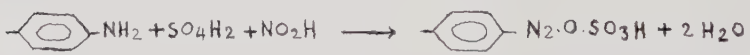
On réalise une réaction de Sandmeyer, à froid :

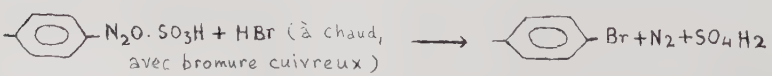
b) Acide métatolylboronique (on peut se servir de la méthode de Bigelon, en partant de la métatoluidine commerciale redistillée, ou bien de la méthode de Johnson et Sandborn, en partant de la paratoluidine, et dont nous rappelons ci-après le principe) :



Le premier de ces trois passages se fait avec Br, le troisième en présence d'éthanol et de Cu.

c) Acide paratolylboronique :





Le degré de pureté du produit est à envisager. Car la réaction de Bean et Johnson fournit une matière impure, souillée d'acide borique et de bitolyle, qui doivent être éliminés.

Aussi a-t-il paru important d'obtenir des acides tolylboroniques très purs.

Dans ce but, on doit passer par l'intermédiaire des esters butyliques correspondants qui, eux, sont plus faciles à purifier : les esters sont en effet commodément distillables, alors que les acides ne le sont pas.

De l'ester, on revient sans difficulté à l'acide par hydrolyse acide à froid.

On peut aussi passer au sel, par addition d'une quantité calculée (1 M pour 1 M d'ester) de soude aqueuse, élimination azéotropique du butanol, puis évaporation à sec.

A la fin de l'opération, on se rend compte de l'obtention de la pureté par la spectrographie en infra-rouge et la chromatographie sur plaque, ainsi que par les constantes physiques.

Les résultats des préparations sont données dans le tableau suivant :

Notation des méthodes.

A= méthode de Bean et Johnson, avec la modification suivante : extraction éthérée de l'acide arylboronique et évaporation à sec avant la recristallisation.

B = préparation par l'intermédiaire de l'ester butylique.

Acides tolylboroniques :

	ortho	méta	para
méthode	A	A et B	A
rendement % ..	29 - 35	30 (A), 24 (B)	25 - 31
point de fusion trouvé *	159 - 168°	A : 157 - 158 (a) (anhydride) B : 160 - 161 (b)	223 - 224 (c)

Esters butyliques

Tolylboronates :

	ortho	méta	para
méthode	B	B	B
rendement % ..	99°/0,1 mm	100° / 0,04 mm	109°/1,25 mm
n_D^{20}	1,4738	1,4820	1,4780
d^{23}	0,913	0,920	0,918

* Avec le capillaire — appareil à point de fusion de Tottoli (Büchi).

(a) M = 120 (acidimétrie par NaOH N dans glycerol-eau à 50/50). M théorique = 118.

(b) M = 119,5 (acidimétrie par même méthode).

(c) M = 133 (acidimétrie par même méthode). M théorique = 135,9.

Nous ferons remarquer que, pour le point de fusion, les valeurs trouvées sont un peu différentes de celles indiquées par la littérature :

- Pour l'acide ortho, 160°-168° selon König et Scharrnbeck;
- Pour l'acide méta, 137°-140° selon Khotinski et Melamed, 137° selon König et Scharrnbeck;
- Pour le para, 258°-259° selon Bean et Johnson.

LE DOSAGE DU BORE PAR SPECTROGRAPHIE D'ÉMISSION

D'une manière générale au cours de nos expérimentations, le bore sera dosé par spectrographie d'émission dans l'arc continu ou alternatif, basse tension, suivant la méthode précisée par Pitet, Clavel et Caujolle (1968), largement utilisée par Mariotti (1970).

Matériel et technique sont de pratique courante au service de physique du Centre de recherches sur les toxicités où, sous la direction de M. J. Oustrin, nos dosages ont été effectués. Nous ne jugeons pas indispensable de revenir sur tous les détails d'une pratique, exposée, entre autres, par Mariotti.

Rappelons-en le fil conducteur :

« Nous avons employé un grand spectrographe de Hijger à optique de quartz. La source est un arc alternatif basse tension, montage de Pfeilsticker; les électrodes sont en carbone très pur, exempt de bore, cylindriques, de 7 mm de diamètre, la supérieure taillée en cône et l'inférieure creusée d'un cratère destiné à recevoir l'échantillon desséché et pulvérisé. L'image de l'entrode (2 à 3 mm) est projeté sur la fente d'entrée du spectrographe, Avec une intensité de 8 ampères, la brillance de l'arc est suffisante pour que l'échantillon soit totalement volatilisé en une minute et que les films photographiques de 200 degrés A.S.A. (American Standard Association) soient convenablement impressionnés. L'arc au fer sert de référence. »

La raie d'analyse choisie, dans le doublet de raies ultimes du bore, est la raie 2497,73 Å. Elle est plus sensible que la raie 2496,78 Å; elle ne présente pas, comme cette dernière, une interférence avec une raie du fer, ce qui serait gênant dans le cas de l'examen d'un échantillon de sang.

La valeur quantitative du dosage est déterminée par densitométrie sur plaque photographique, avec étalon interne.

En raison des exigences des analyses biologiques, l'étalon interne adopté est le beryllium. Référence est faite au triplet

2494 Å de cet élément, choisi à cause de la sensibilité suffisante de cette raie 2494, ensuite à cause de la grande solubilité du sulfate de beryllium dans l'eau. On introduit le beryllium sous l'état de sulfate à la dose de 6 μg dans l'échantillon.

Le seuil de détection du bore est à la valeur de 0,1 μg de ce bore dans 300 mg d'échantillon. Le dosage devient quantitatif à celle de 0,5 μg. Pour les valeurs comprises entre 0,5 et 8 μg, la courbe d'étalonnage se ramène à une droite.

Voici maintenant comment préparer la matière qu'on se propose de passer à l'arc :

— Peser l'organe frais, aussitôt après l'autopsie, puis le sécher;
— Broyer environ 200 mg de la matière de cet organe, après homogénéisation;
— Mélanger avec 0,2 ml de la solution d'étalon interne et de tampon électrolytique, ainsi composée, et qui doit être fraîche (moins de 48 heures depuis la fabrication) :

sulfate de beryllium H_2O	à la dose susdite
chlorure ferrique	0,05 g
sulfate de potassium	1,00 g
carbonate de calcium	0,20 g
eau déminéralisée fraîche	100 ml

— Dessécher le mélange au bain-marie ou à l'étuve;
— Pulvériser le produit de la dessication;
— Mettre la poudre dans le cratère de l'électrode inférieure et procéder au dosage.

Ajoutons que tous les résultats de nos mesures sont analysés par les méthodes de la statistique au service de mathématiques du Centre, en particulier avec la détermination des limites de confiance (m1-m2) de la moyenne m au seuil 5 %.

Les résultats sont exprimés suivant des paramètres identiques.

Cette méthode par spectrographie d'émission joint à la simplicité de son exécution une grande spécificité.

Chapitre II

TECHNIQUES BIOLOGIQUES

LES ANIMAUX D'EXPÉRIMENTATION

Rat blanc Wistar.

Nous avons opéré essentiellement sur le Rat blanc de laboratoire (1).

On sait que c'est une forme particulière dérivée de l'espèce nommée *Mus decumanus* par Pallas, *Mus norwegicus* ou Rat des bois par Brisson, Surmulot par Buffon, en langue courante chez les Allemands « die Wanderratte », chez les Anglais « the Brown Rat ». D'après les règles internationales dans la nomenclature systématique, sa désignation rigoureuse est *Rattus norvegicus* Berkenhout.

Tirant son origine d'Asie Centrale (Iran et pays circum voisins), cette espèce n'apparut en Europe que vers les débuts du XVIII[e] siècle : Pallas l'indiquait en 1727, migrant depuis les bords de la Mer Caspienne; des navires en provenance des Indes orientales l'introduisaient en 1732 sur l'Angleterre. Elle se propagea partout avec une rapidité foudroyante.

Des cas d'albinisme y étaient remarqués. Ainsi la grande encyclopédie zoologique du XIX[e] siècle par Brehm (t. 2, p. 103 de l'édition française) pouvait écrire : « On rencontre des rats blancs avec des yeux rouges ».

Mais, comme les albinos sont des sujets fragiles, moins bien adaptés dans la résistance à la vie que leurs congénères normaux, on n'en trouve que rarement dans la nature. Par contre, les conditions artificielles d'élevage par l'homme les protègent et ils prospèrent en captivité (Carpentier 1950, Broustail 1951).

C'est une des raisons pour lesquelles le Rat blanc a été adopté au nombre des animaux de laboratoire. On l'a élevé méthodiquement, de façon suivie pour obtenir des races stables, cons-

(1) Remarque orthographique. — Conformément aux règles, nous écrirons « Rat » (avec une majuscule initiale) quand il s'agit du nom propre de l'espèce zoologique, différenciée par rapport aux autres, et « rat » (avec une minuscule) quand il s'agit du nom commun de l'un des individus qui appartiennent à cette espèce. De même pour les autres animaux cités.

tantes dans leur comportement. Celle que nous avons utilisée est la souche Wistar A.G., du Centre de recherches sur les toxicités.

Les sujets en sont produits aux animaleries de ce Centre de recherches sur les toxicités, animaleries que M. le Dr Faure dirige avec une compétence éprouvée des sciences vétérinaires.

La lignée de ces rats est nette à remonter. Ils dérivent de géniteurs que ce Centre avait reçus du Centre de sélection des animaux de laboratoire du C.N.R.S., à Gif-sur-Yvette (Seine-et-Oise), — qui en avait lui-même obtenu, en 1954, la souche à partir des établissements du Dr Cuthbertson, Glaxe Laboratories, Grennford, Middlesex, — lequel la tenait directement du Winstar Institut, Philadelphia, U.S.A.

Parmi les races de rats sélectionnées dans cet institut, la souche Wistar W.A.G. est d'albinos à yeux roses; elle se prête de façon assez polyvalente aux expérimentations en laboratoire, ce qui fait qu'elle compte parmi les plus utilisées dans les établissements de maints pays.

Dans les élevages de Toulouse, ces animaux sont installés sur une litière de menus copeaux de hêtre, renouvelée toujours de la même matière, afin de ne pas introduire le moindre facteur de changement. Au National Institute de Bethesda en Maryland, n'a-t-on pas montré, à une date récente (Vesell, 1967), que le remplacement d'une litière de conifères (cèdre rouge, pin du Lord, pin Ponderosa) par une de bois de feuillus (hêtre, bouleau, érable) entraîne une induction de trois enzymes métabolisant des substances médicamenteuses dans les microsomes hépatiques de souris et de rats ? Si on ne veut rien perturber, ni fausser la constance de la race en expérimentation, on ne doit donc changer un environnement qui peut avoir une influence réelle.

La nourriture de ces animaux consiste en rations comprimées et biscuitées, composées selon les indications données pour un tel élevage par le Centre, et préparées sous le nom de « Aliment Rat à l'entretien » par la société des Aliments J.O.F., à Toulouse. En voici les caractéristiques :

Composition :

Blé, tourteaux de soja, d'arachide, poisson, levure, sucre, suif, condiment minéral vitaminisé.

Garantie maximum :

Humidité	14 %
Cellulose	5 %
Matières minérales	10 %

Garantie minimum :

Matières protéiques brutes	20 %
Matières grasses	4 %

Vitamines (aux 100 kg) :

A	1.000.000 U.I.
D3	250.000 U.I.
B1	200 mg
B2	660 mg
Acide nicotinique	2.000 mg
Acide pantothénique	330 mg

Pour ce qui nous intéresse en particulier, une telle nourriture ne peut renfermer de traces de bore qu'en des présences si infimes qu'elles sont indosables et même indétectables dans les conditions ordinaires des dosages. D'ailleurs, les animaux sont toujours traités pour les expériences après un jeûne de 24 heures, ce que exclut toute perturbation d'origine alimentaire.

En général, sauf indications spéciales, nous avons choisi des sujets adultes, de poids moyen compris entre 200 et 300 grammes, principalement de sexe mâle, mais aussi éventuellement de sexe femelle, après nous être assuré qu'aucune différence majeure de comportement ne se révèlait, quant à ce point de vue des pénétrations par le bore.

Autres espèces utilisées.

Si le Rat blanc nous a fourni fondamentalement les très nombreux sujets de nos expérimentations, dans deux cas nous avons voulu vérifier la constance des résultats, en complétant sur des espèces différentes : la Souris blanche, quant aux recherches sur la toxicité; le Hamster et la Lapine, quant au comportement de la perméabilité méningée chez les femelles gestantes.

La Souris blanche est l'animal le plus anciennement classique en laboratoire (Broustail, 1951) : *Mus musculus* L. albinos. Sa race employée ici est la Swiss.

Le Hamster est le Hamster doré, *Mesocricetus auratus*, décrit, nommé par Waterhouse (1839), et originaire de Syrie. De 1930 à 1934, on se rendit compte qu'il pouvait être élevé facilement en captivité (Ben Menahem, 1934) et remplacer le Hamster chinois pour les expériences sur la leishmaniose, la tuberculose et la brucellose. Un mâle et deux femelles, rapportés en 1930 par Aharoni au service de parasitologie de l'Hebrew Université de Jérusalem, seraient à l'origine de tous ceux qui existent de nos jours dans les laboratoires (Adler, 1948). Les conditions

d'élevage en sont bien mises à point (Leroux, 1964). Nous avons employé les hamsters des animaleries du Centre sur les toxicités et dont la souche dérivait des élevages du Centre de Gif-sur-Yvette.

Les lapines étaient de sorte courante : *Oryctolagus cuniculus* L. *domesticus*, — forme complexe des élevages toulousains, résultant de croisement de maintes races : l'argentée, la fauve, la hollandaise, bien d'autres, et aussi la fauve de Bourgogne.

LA TOXICITÉ DES ACIDES TOLYLBORONIQUES

La toxicité des acides ortho et paratolylboroniques a été étudiée par F. Caujolle, Y. Gout-Tarbouriech et R. Gout (1959 et 1960), par F. Caujolle, R. Gout et P. Lavaur (1960), par R. Gout (1968), par voie intrapéritonéale. Un cas particulier de la voie orale (suspension en hydrosol de gomme arabique) a été examiné par M^me^ Bonnell-Pène (1969).

La toxicité de l'acide métatolylboronique restait à déterminer. C'est pourquoi les expérimentations, nécessaires à en résoudre le problème, ont pu m'être confiées : une part de leurs résultats, dès lors, figure dans le travail de D. Caujolle, F. Caujolle, Dang Quoc Quan et Gh. Dousset (1969, 1970).

De telles considérations seront ici à leur place. Des lignes autorisées le disent : « A l'origine de toute recherche pharmacologique se présente l'étude de la toxicité. Elle renseigne sur certains aspects particuliers de mode d'action. Or celui-ci est, la plupart du temps, commandé par l'attaque directe ou indirecte du système nerveux. On peut donc dire que la mise en évidence des réactions du système nerveux à l'introduction d'une substance dans l'organisme constitue l'une des données fondamentales de la pharmacodynamie d'un produit. » (Quevauvillier, 1956).

Dans la caractérisation des toxicités, on résume les données qui jalonnent les divers éléments de la courbe de Trévan et qui correspondent à des doses exprimées en grammes par kilog de poids de l'animal, déterminées à échéance suffisamment prolongée pour être significative (F. Caujolle et D. Meynier, 1957).

A échéance de 24 heures :

— Dose maximale jamais mortelle ..... DMJM

— Dose léthale à 50 % de morts et 50 % de survivants ..... DL 50

— Dose minimale toujours mortelle ..... DmTM

A échéances dites distales, notion définie selon Caujolle et

Meynier (1957) et que, lors d'une épreuve sur mammifères, il est devenu classique de définir :

— Dose léthale limite (ne variant plus avec la prolongation de la durée des observations) DL 50 limite;
— Dose infra-léthale jamais mortelle, quel que soit le temps écoulé = DL 0;
— Temps de crise (en jours), celui après lequel aucune mortalité n'est enregistrée;
— Indice d'agressivité ou DL 50 en temps de crise, exprimé en millimolécules (mM) par kg.

Toxicité des acides ortho et para tolylboroniques.

Pour faciliter les comparaisons, rappelons, comme point de départ, ce qu'on sait, à ce sujet, de l'acide orthotolylboronique, d'après les auteurs précités (Caujolle, Gout-Tarbouriech et Gout, 1959).

Toxicité de l'acide orthotolylboronique

Doses en g par kg de poids de l'animal

	Par voie I.P.
Chez la Souris Swiss :	
Echéance de 24 heures :	
DMJM	0,288
DL 50	0,371
DmTM	0,461
Echéances distales :	
DL 50 limite	0,307
Dose infra-léthale	0,173
Temps de crise	8 jours
Indice d'agressivité (en mM/kg)	2,22
Chez le Rat :	
Echéance de 24 heures :	
DMJM	0,046
DL 50	0,072
DmTM	0,092
Echéances distales :	
DL 50 limite	0,067
Dose infra-léthale	0,035
Temps de crise	5 jours
Indice d'agressivité (en mM/kg)	0,49

En ce qui concerne la toxicité de l'acide paratolylboronique, j'avais, avant de commencer, à vérifier l'efficacité de la méthode que j'allais avoir à pratiquer.

Aussi devais-je débuter en expérimentant à nouveau l'acide paratolylboronique, dont la toxicité avait déjà été établie par les publications susdites.

A cause de sa solubilité très faible, sinon inexistante, en eau froide — comme nous l'avons énoncé dans l'introduction —, cet acide a été administré sous la forme de son sel sodique, obtenu par dissolution dans la liqueur Na OH N/10, avec addition de quelques gouttes de liqueur Na OH N, pour renforcer. Le soluté ainsi réalisé contient, dans 100 ml, 2 g de paratolylboronate, — concentration double de celle employée par Gout (1968, p. 92) ; son pH est 8,5.

Comme mode d'administration, j'ai mis à contribution les trois voies classiques :

a) La voie orale ou entérale, « per os » (P.O.), en utilisant la sonde œsophagienne — pour les Souris, aucune difficulté; pour le Rat, il faut concentrer le liquide à 4 %, parce que la dilution à 2 % conduirait à faire absorber à l'animal un trop grand volume de liquide;

b) La voie intrapéritonéale (I.P.), la plus courante et dont la technique a été reconsidérée à une date très récente par Schneider (1970) chez le Rat;

c) La voie intraveineuse (I.V.) : l'injection est alors plus délicate à effectuer, car elle doit se faire dans la veine caudale, ce qui amène à installer l'animal dans une boîte spéciale, de petites dimensions, ne laissant dépasser que la queue.

Mes expérimentations avec le paratolylboronate ont duré plus de trois mois et ont porté sur 400 individus de souris blanches et sur 252 de rats albinos. Les résultats de toxicité ne sont pas éloignés de ceux déjà publiés; et, comme ils reposent sur un assez grand nombre d'animaux, ils confirment la constance de la méthode et la validité des conclusions. On donnera ici ceux obtenus antérieurement par Caujolle, Gout-Tarbouriech et Gout (1959), par Caujolle, Gout et Lavaur (1960).

Toxicité de l'acide paratolylboronique

Doses en g par kg de poids de l'animal

	Par voie I.P.
Chez la Souris Swiss :	
Echéance de 24 heures :	
DMJM	0,425
DL 50	0,512
DmTM	0,550

Echéances distales :

DL 50 limite	0,495
Dose infra-léthale	0,400
Temps de crise	8 jours
Indice d'agressivité (en mM/kg)	3,64

Chez le Rat :

Echéance de 24 heures :

DMJM	0,20
DL 50	0,28
DmTM	0,40

Echéances distales :

DL 50 limite	0,26
Dose infra-léthale	0,20
Temps de crise	2 jours
Indice d'agressivité (en mM/kg)	1,94

DÉTERMINATION DE LA TOXICITÉ DE L'ACIDE METATOLYLBORONIQUE.

Après ces essais préliminaires, je pouvais aborder, avec les mêmes techniques, l'étude originale de la toxicité de l'acide métatolylboronique.

Mes essais ont été faits avec le sel sodique de cet acide, pour les raisons déjà dites,

a) Sur la Souris race Swiss, sujets mâles et sujets femelles, en même nombre des deux sexes, de poids compris entre 22 et 29 grammes, — et par deux voies différentes, l'entérale, avec l'aide de la sonde œsophagienne, l'intrapéritonéale, avec l'injection en 20 secondes de la solution isotonique au plasma;

b) Sur le Rat souche Wistar A.G., sujets mâles et sujets femelles, toujours en même nombre de chaque sexe, de poids compris entre 200 et 250 grammes, - également par les deux voies, l'entérale et la péritonéale.

Le total des animaux que j'ai traités, pour ce seul point de vue de la toxicité métatolylboronique, s'élève à 530 sujets, dont 290 de souris (90 P.O. et 200 I.P.) et 240 rats (70 P.O. et 170 I.P.). Ce nombre assez important permet d'établir une statistique raisonnable.

Symptomatologie.

Dans leur ensemble, souris et rats réagissent de façon comparable à l'intoxication expérimentale. Les divers sujets ont évidemment des vitalités et des sensibilités différentes, aussi les symptômes peuvent-ils se manifester avec des inégalités appré-

ciables de degrés; mais leur processus ne s'en déroule pas moins avec assez de constance.

Après l'ingestion ou l'injection du produit, un bref instant de choc laisse se dégager une impression passagère de malaise. Les animaux trottinent, comme s'ils cherchaient à se mettre quelque part, à trouver refuge ou, peut-être, simplement à ne savoir où aller. Puis ils tendent à se serrer les uns contre les autres, par un désir de rapprochement qui ne serait alors qu'une forme de l'instinct de conservation.

Les attitudes de détail sont multiples. Assez souvent, les sujets ont leur poil dressé, hérissé. Ils se mettent volontiers en boule. Ils portent leurs oreilles en arrière, surtout les mâles. Les yeux se laissent voir à peine entrouverts.

Les symptômes pathologiques de l'intoxication apparaissent sans tarder :

1) Les muscles fléchissent, leurs masses deviennent flasques. Cette phase de résolution musculaire aboutit à une immobilité apathique, secouée cependant de légers tremblements spasmodiques;

2) Une sorte d'ataxie locomotrice se manifeste vite, dégénérant en paralysie complète. Le corps est allongé sur le sol, avec extrême difficulté de mouvoir les pattes postérieures, qui s'écartent souvent en extension et qu'on a presque impossibilité de ramener en position normale sous l'abdomen;

3) Les phénomènes respiratoires semblent lutter plus longtemps; mais ils ne s'en affaiblissent pas moins, à la fois dans leur rythme et dans leur intensité. La respiration, alors pénible, est secouée parfois de saccades.

L'état général ne tarde pas à s'aggraver. Les réflexes au toucher et à la douleur ont diminué, si bien qu'on peut pincer le sujet ou même le piquer, sans obtenir de lui une réaction sensible. Par contre, les réflexes au bruit, quoique diminués eux aussi, semblent se maintenir plus longtemps.

Tout cela aboutit à une apparente somnolence inhibitrice, qui est en réalité un marasme comateux, ébranlé seulement de loin en loin par quelques spasmes assez forts du diaphragme. A ce stade, l'animal, en général, succombe.

Mais, comme souvent en biologie, le facteur individuel intervient. Il existe des sujets de grande vitalité, qui résistent mieux, et dont certains résisteront jusqu'au bout, au moins dans les limites des doses tolérables.

On les voit toujours dans leur attitude d'épreuve, avec leur poil hérissé, souvent serrés les uns près des autres.

Mais ils vont récupérer vite, même très vite : l'élimination du produit doit se faire à cadence accélérée. La paralysie s'estompe, les muscles retrouvent leur tonus, le corps perd sa flaccidité, les masses musculaires sont fermes. La sensibilité renaît aux excitations extérieures, d'abord celle au bruit, traduisant un sens très affiné; on ne peut plus toucher ces sujets, encore moins les pincer ou les piquer, sans qu'ils réagissent. Dans l'aspect général, on n'aperçoit plus de poils hérissés, ni d'individus serrés entre eux. Les survivants semblent devoir traverser l'épreuve sans autre dommage.

Pourtant, deux ou trois jours après, sans le moindre symptôme extérieurement visible, un très petit nombre de décès peut se produire. Ceux qui survivent à ce nouveau tri (en somme, à retardement) semblent avoir définitivement résisté, au moins pendant la longue durée où nous avons continué la surveillance.

Comparaisons symptomatologiques.

a) *Entre la voie entérale et la voie péritonéale.*

On peut se demander si le moyen adopté pour introduire le produit dans l'organisme n'influe pas sur le processus des symptômes consécutifs.

Entre la voie d'ingestion (entérale) et celle d'injection (intrapéritonéale), nous n'avons guère observé de différences profondes dans les modalités, ni dans l'ordre de déroulement des manifestations qui se sont déclenchées par l'absorption de la dose. Cela semble normal, puisque l'organisme reste le même.

Mais l'introduction est plus directe par la voie intrapéritonéale et passe tout de suite dans le torrent circulatoire. Aussi les symptômes obtenus sont-ils supérieurs en rapidité et en intensité : donc réalisables dans des temps un peu moindres ou avec des doses un peu plus légères, bien entendu, à ne comparer que des choses comparables.

b) *Entre la Souris et le Rat.*

Par rapport aux comportements de la Souris, ceux du Rat apparaissent comme plus sensibles à l'administration de l'acide métatolylboronique. Aux mêmes doses relatives, le Rat manifeste des symptômes qui sont, à la fois, plus prompts et plus intenses que chez la Souris. Il apparaît comme plus touché.

Aussi n'est-il pas étonnant que, puisque le choc toxique fut plus violent, la reprise d'activité de ceux qui survivent se fasse plus lentement que dans le cas de la souris soumise aux mêmes conditions.

Résultats sur la toxicité.

Pour simplifier l'exposé, nous condenserons dans leurs données générales les résultats de nos nombreuses expérimentations avec l'acide métatolylboronique ou, plus exactement, son sel sodique.

TOXICITÉ DE L'ACIDE METATOLYLBORONIQUE

Doses exprimées en g de sel sodique de cet acide par kg de poids de l'animal

	Par voie entérale (P.O.)	Par voie intra-péritonéale (I.P.)
Chez la Souris :		
Echéance de 24 heures :		
DMJM	0,71	0,50
DL 50	1,02 (0,94-1,12)	0,71 (0,58-0,80)
DmTM	1,26	1,00
Echéances distales :		
DL 50 limite	1,02 (0,94-1,12)	0,71 (0,58-0,80)
Temps de crise	24 heures	24 heures
Indice d'agressivité	1,02 (0,94-1,12)	0,71 (0,58-0,80)
Chez le Rat :		
Echéance de 24 heures :		
DMJM		0,28
DL 50		0,36 (0,31-0,41)
DmTM		0,67
Echéances distales :		
DL 50 limite		0,36 (0,31-0,41)
Temps de crise		24 heures
Indice d'agressivité		0,36 (0,31-0,41)

Nous indiquons entre parenthèses les variations extrêmes autour des moyennes.

TOXICITÉ COMPARÉE DES TROIS ACIDES TOLYLBORONIQUES.

Pour comparer les degrés de toxicité des trois isomères, nous n'avons qu'à introduire le métatolylboronique dans le tableau des valeurs de toxicité, établi jusqu'à présent par F. CAUJOLLE et ses collaborateurs pour les acides antérieurement expérimentés de son groupe, en y maintenant en tête, en guise de référence, l'acide borique.

On verra ainsi que, des trois isomères, notre acide métatolylboronique est le moins toxique, le plus maniable, alors que l'ortho est le plus toxique. Il est un peu moins toxique que l'acide phénylborique qui, sous ce rapport, se rapproche de l'isomère para. La diminution progressive de toxicité se fait donc suivant l'ordre ortho, para, méta.

VALEURS COMPARÉES DE TOXICITÉ

DOSES EXPRIMÉES EN g DE SEL SODIQUE PAR kg DE POIDS DE L'ANIMAL

Par voie intrapéritonéale

Chez la Souris :

Echéance de 24 heures	DMJM	DL 50	DmTM
Acide borique	1,00	2,21	3,00
» phénylboronique	0,325	0,542	0,600
» orthotolylboronique ..	0,288	0,371	0,461
» métatolylboronique ..	0,50	0,71	1,00
» paratolylboronique ..	0,425	0,512	0,550
» orthoanisylboronique .	0,450	0,575	0,650
» paraanisylboronique ..	0,650	0,750	0,850

Ces essais préalables étaient indispensables au choix des doses pouvant être utilisées au cours de nos essais proprement dits.

DEUXIÈME PARTIE

BORE ORGANIQUE ET SYSTÈME NERVEUX CENTRAL

SOMMAIRE DES CHAPITRES
DE LA DEUXIÈME PARTIE

Chapitre I :

Non-passage du bore dans le liquide céphalo-rachidien du Rat normal.

Chapitre II :

Diffusion du bore dans le liquide céphalo-rachidien des rattes gestantes.

Chapitre III :

Non-diffusion du bore dans le liquide céphalo-rachidien du Lapin normal.

Chapitre IV :

Diffusion du bore dans le liquide céphalo-rachidien de la Lapine gestante.

Chapitre V :

Localisation cérébrale du bore.

Chapitre VI :

Localisations dans le cerveau à l'échelle des structures subcellulaires.

Chapitre I

NON-PASSAGE DU BORE DANS LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN DU RAT NORMAL

L'axe cérébral est entouré (ou baigne dans) le liquide céphalo-rachidien; celui-ci (L.C.R.) est, du système méningé, le liquide de premier abord entre l'extérieur et cet axe. Aussi importe-t-il de voir d'abord son comportement, en présence du bore introduit expérimentalement dans l'organisme sous la forme des acides tolylboroniques.

Méthodes de prélèvement par ponction.

Le prélèvement du liquide céphalo-rachidien peut s'effectuer sur diverses portions du neuraxe, au long de celui-ci : soit dans son département central, qui recèle les trois quarts du volume de ce liquide et remplit les espaces ventriculaires (a), soit dans son département périphérique, qui remplit les espaces sous-arachnoïdiens (b et c). Cela se fait chez l'Homme selon des techniques devenues courantes et de mode opératoire bien précisé (Péquignot et coll., 1966). Chez l'animal en expérience, les techniques sont comparables.

a) **Ponction ventriculaire.**

Par cette intervention, on atteint la fraction ventriculaire, celle où le liquide est le plus abondant et le plus près des centres. Cela se pratique chez l'Homme, au cours d'opérations qui revêtent même le type chirurgical, car elles nécessitent une trépanation. Dans le traité de Riser (1929), on lira, consignées avec maîtrise, la manière et la situation des ponctions crâniennes ventriculaires chez l'Homme.

b) **Ponction sous-occipitale et atlo-occipitale.**

Dans l'espace situé entre l'arrière du crâne et la première vertèbre cervicale, l'atlas, on se place sensiblement en face du confluent bulbo-cérébelleux, entre bulbe, cervelet et moëlle épinière. Dans cet intervalle existe la « grande citerne » ou citerne bulbo-cérébelleuse.

Tel est le point de prélèvement que nous avons choisi de la façon la plus habituelle.

La technique que nous avons longuement utilisée est inspirée de celle de Jeffers et Friffith (1962).

Après avoir anesthésié le rat à l'éther, on le place sur une étroite planchette-support, inclinée à 45° environ, et l'on maintient cette position sur la rampe inclinée en fixant les pattes : alors la tête se trouve en haut, dépassante et surélevée, de telle sorte que l'axe dorsal fasse avec elle un angle de 50°.

Notons qu'on a prévu au milieu de la planchette-support un creux pour éviter la compression de la trachée.

On abaisse la tête du sujet, ce qui a pour résultat de faire saillir la protubérance occipitale. Entre cette saillie de ladite protubérance et la crête de l'atlas, on sent sous le doigt une dépression.

C'est au milieu de cette dépression qu'on va introduire une aiguille de 6/10e de mm : pour faciliter la pénétration, il est recommandé de la choisir à biseau long. Après une résistance initiale à l'enfoncement, due à la traversée de ligaments (chez l'Homme, on parlerait de ligament postérieur occipito-atloïdien) et aussi à celle de la dure-mère, on sent cette résistance faiblir. L'aiguille finit de s'enfoncer : elle traverse alors, sans difficulté et sans qu'on ne s'en rende compte directement, l'espace séreux, puis l'arachnoïde fort mince et pénètre enfin dans les espaces sous-arachnoïdiens qui renferment le liquide céphalo-rachidien et qui, là, sont devenus par dilatation la grande citerne.

Au bout de quelques secondes, le liquide céphalo-rachidien arrive à sortir, par l'effet de sa pression propre, qui le pousse dans l'aiguille et, de là, dans le tube capillaire qu'on a ajusté à celle-ci : ce liquide apparaît normalement clair et incolore.

Cette méthode fournit ordinairement une quantité satisfaisante de liquide, convenable pour les dosages éventuels : de l'ordre de 0,1 ml. Au-delà de ce volume, l'écoulement devient plus difficile; d'ailleurs, avec les minutes qui passent, le rat peut se réveiller (car on a eu intérêt à ne faire qu'une anesthésie légère) et son comportement se modifierait.

c) **Ponction lombaire.**

On l'effectue le plus commodément entre la 4e et la 5e vertèbre lombaire. L'introduction de l'aiguille (6/10e de mm) se fait chez le Rat exactement comme chez l'Homme, où la médecine emploie couramment ce mode de ponction, pratiqué pour la première fois par Quincke en 1891.

A l'aide de cette méthode, l'obtention du liquide lombaire nous a paru moins commode que dans le cas précédent : on a plus de difficulté à en recueillier une quantité suffisant aux essais, car on ne doit pas oublier le volume relativement petit de l'animal expérimenté, le Rat.

Variations éventuelles suivant les points de prélèvement.

Je n'ai pas à parler ici des variations de l'ensemble du liquide céphalo-rachidien en fonction des causes internes ou externes, maladies, troubles de la nutrition, intoxications, maladies infectieuses, variations des points isoélectriques suivant des cas pathologiques et leur étude par cataphorèse, telles que maints auteurs les ont étudiées, en particulier Bernstein (1933). Je veux parler des variations propres d'un même liquide dans son sein, chez un sujet normal.

En effet, une recherche complète devrait envisager séparément chacun des liquides rendus par les trois sortes de ponctions. Car la composition du L.C.R. souffre de quelques différences, en raison de la position longitudinale sur le neuraxe.

Une importante mise au point de biochimie a été faite par Gillard (1969), notamment quant aux protéines totales et aux acides aminés, enzymes, lipides et non protéiques. Une technique de cyto-diagnostic est indiquée par Kistler (1970). On sait, depuis bien avant, que, par exemple, la teneur en protéines, en albumines, en globulines, le rapport albumines/globulines, les éléments figurés et la densité vont en augmentant de l'avant à l'arrière, tandis que la teneur en glucose et la négativité des réactions colloïdales diminuent au contraire dans ce même sens (Documents Geigy, 1963). Quand on descend vers la région lombaire, le nombre des cellules incluses augmente (Riser, 1929).

A priori, rien ne dit que, avec des substances étrangères introduites artificiellement dans le corps, on ne pourrait avoir des variations plus ou moins légères de teneur, de l'avant à l'arrière, dans le liquide céphalo-rachidien, au cas où elles y passeraient. D'ailleurs, expérimentalement, l'injection intra-veineuse de radiosodium révèle que celui-ci se répand dans le liquide céphalo-rachidien, mais en passant d'abord dans le liquide ventriculaire, avant d'arriver dans le liquide lombaire (Courtois et Perles, 1960).

La composition moyenne se trouve dans la région moyenne, entre l'encéphalique et la lombaire; voilà, en sus de la commodité de technique, une raison de plus pour nous avoir fait adopter la région sous-occipitale comme lieu préférentiel de ponction.

Expérimentation sur animaux normaux.

Les sujets expérimentés par les acides tolylboroniques sont toujours à jeun quand nous les traitons. Ils sont sacrifiés ensuite à des échéances échelonnées à partir de l'administration du produit, et séparées par des intervalles de temps bien définis.

C'est l'étude dans le liquide céphalo-rachidien que nous proposons ici. Mais on sait que celui-ci, sans être à proprement parler une sécrétion ni un transsudat, est considéré plutôt comme produit de dialyse du plasma sanguin sur des epitheliums différenciés (Mestrezat, 1911). Aussi avons-nous estimé utile de comparer les teneurs en bore dans le liquide céphalo-rachidien avec celles dans le sang des mêmes sujets : on en lira donc les dosages côte-à-côte.

Trois sujets n'ont pas été traités, pour servir de repères-témoins : ils ont fourni un liquide limpide et qui ne présentait pas la moindre trace de bore.

Quant aux sujets traités, ils ont fourni (D. Caujolle et Gh. Dousset, 1971) les résultats que nous condensons dans le tableau suivant.

TENEURS EN BORE
DANS LE SANG ET DANS LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN
APRÈS ADMINISTRATION DES ACIDES TOLYLBORONIQUES, A DOSE DE 0,20 g/kg

Résultats en microgrammes de bore par g de poids (µg/g)

Acide orthotolylboronique :

Echéance en mn ..	3	5	10	15	30	60
dans le sang	12,6	15,6	13,8	17,8	13,8	9,5
dans le L.C.R.	traces	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.

Acide métatolylboronique :

Echéance en mn ..	3	5	10	15	30	60
dans le sang	6	7,8	9,6	8	7,8	19,5
dans le L.C.R.	traces	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.

Acide paratolylboronique :

Echéance en mn ..	3	5	10	15	30	60
dans le sang	2	3,9	4	14	12	12
dans le L.C.R.	traces	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.

Ces résultats, traduits d'autre part en graphique (fig. 1), montrent que, quel que soit l'isomère tolylboronique administré, quel que soit le temps laissé pour l'échéance, le bore ne se laisse déceler qu'à l'état de traces infimes dans le liquide céphalo-rachidien (il n'y passe donc pratiquement pas), — alors même

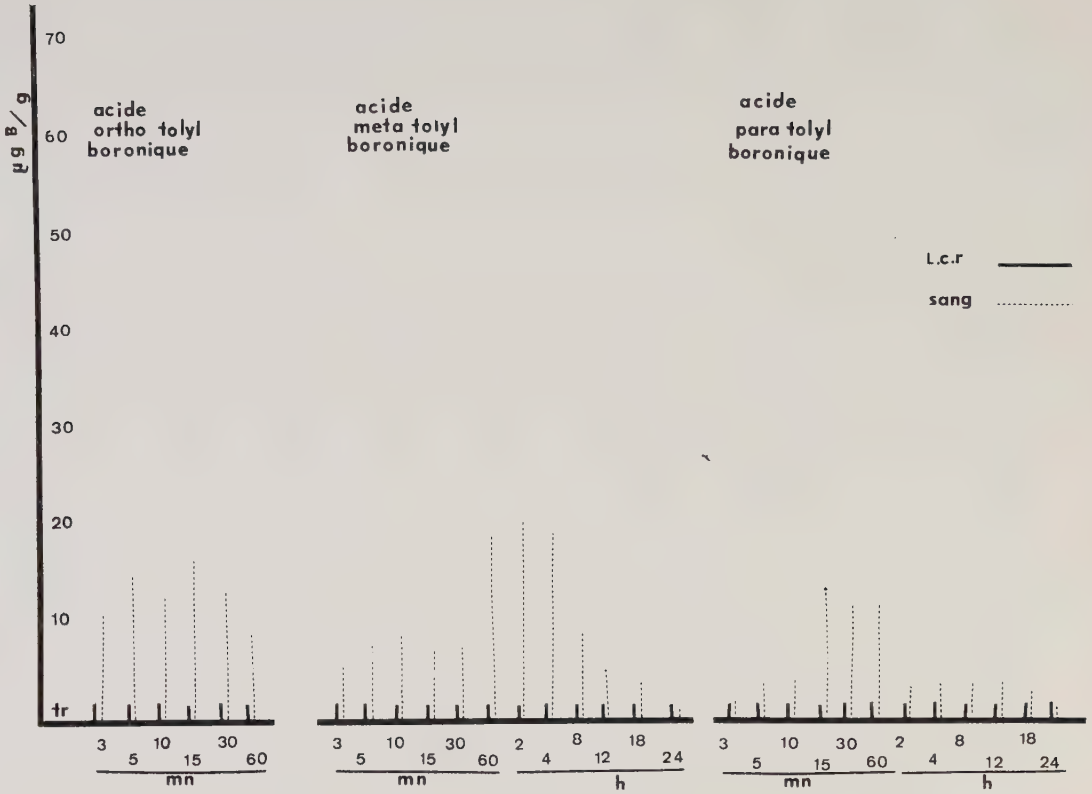


FIG. 1. — *Evolution de la localisation du bore dans le liquide céphalo-rachidien et dans le sang des rats normaux pour les acides o, m, p tolylboroniques.*

En abscisses, les échéances de temps après l'administration. En ordonnées, la teneur en µg B/g.

que l'organisme en est bien imprégné et que, notamment, le sang des sujets en a fixé des doses très notables.

Dans le cadre de nos expérimentations actuelles, qui ne comprennent qu'une administration unique de la dose d'acide tolylboronique, on se trouve là devant un refus du bore de pénétrer dans le liquide céphalo-rachidien en quantité appréciable, — ou bien devant le refus du liquide céphalo-rachidien à recevoir et à retenir le bore. Cela, bien entendu, dans les sujets normaux.

Constatation sur laquelle nous allons revenir, qui pose le délicat problème des variations de perméabilité de la barrière hémato-encéphalique.

Chapitre II

DIFFUSION DU BORE DANS LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN DES RATTES GESTANTES

L'absence du bore dans le liquide céphalo-rachidien après l'administration des tolylboroniques, et ce chez tous les sujets ordinaires (mâles) traités de cette race Wistar A.G. — alors que nous en trouverons notablement dans le cerveau — m'a suggéré que nous avions à élucider un cas spécial de perméabilité méningée.

En réfléchissant sur le concept classique de la barrière hémato-encéphalique et sur quelques faits qu'il laisse dans le doute, on se demande si ce cas d'imperméabilité est absolu et constant : tout incite à rechercher s'il ne comporterait pas des exceptions momentanées, par exemple sexuelles, chez les femelles (état de gravidité).

C'est pourquoi j'ai entrepris une nouvelle série d'expérimentations, celles-ci sur des *femelles gestantes* (toujours de la même race Wistar A.G.).

Pour une telle recherche, le matériel d'étude est long et délicat à obtenir; car on doit travailler avec grande rigueur, afin de ne permettre aucune confusion.

Techniques biologiques.

La chose essentielle est de déterminer le moment exact de la période de gestation auquel on se propose de faire, après l'injection du tolylboronique, le prélèvement du liquide céphalo-rachidien. Il faut donc connaître au préalable, avec précision, l'instant de l'accouplement et la réalité de la fécondation. C'est assez dire que, après le choix pour l'expérimentation, les femelles doivent être surveillées individuellement et les jours notés avec grand soin.

Méthode des frottis vaginaux :

Pour se rendre compte du succès de l'accouplement et du début de la période de gestation effective, on emploie une méthode qui se fonde sur les examens des frottis vaginaux.

a) *Prélèvement.* — La ratte (1) étant maintenue derrière les oreilles et le long du dos, on introduit dans son vagin une petite baguette de verre, un peu effilée et mousse, qu'on fait tourner deux ou trois fois en frottant les parois vaginales : pour être sûr du bon résultat de cette opération, il est recommandé de la recommencer plusieurs fois (trois ou quatre).

Le produit ainsi prélevé est mélangé dans une goutte d'eau, qui a été préalablement posée sur une lame préparée d'avance (d'habitude cette lame est divisée en huit cases, par des traits au crayon à verre, afin de permettre de juxtaposer les produits de plusieurs prélèvements).

b) *Coloration.* — Plusieurs méthodes sont utilisées, toutes commodes :

— Par le bleu de méthylène à 1 % : 2 ou 3 gouttes par frottis, ce qui recouvre complètement celui-ci; laisser en contact 2 ou 3 minutes; verser ensuite l'excès de colorant. Laver la lame dans l'eau, puis laisser sécher. C'est la méthode la plus simple et la plus courante, suffisant dans la plupart des cas;

— Par le May-Grunwald et le Giemsa. Une ou deux gouttes de May-Grunwald sont posées sur la lame porteuse du frottis; recouvrir d'une boîte de Petri, pour éviter l'évaporation, laisser agir pendant 3 minutes. Ajouter 1 ou 2 gouttes d'eau distillée neutre : mélanger par agitation (par retournement de la lame); laisser en contact une minute. Rejeter l'excès sans laver.

Recouvrir ensuite de la solution de Giemsa (3 gouttes dans 2 cc d'eau distillée); mettre à l'abri de l'évaporation, sous cloche; laisser en contact durant 20 minutes. Laver à l'eau sous un jet assez violent. Sécher au buvard.

Cette méthode de coloration, plus longue que la précédente, m'a donné des résultats plus spectaculaires; elle est très employée par les vétérinaires (Marcenac, 1930);

— Par le bleu de toluidine. Ce composé (chlorydrate de triméthylthionine) est un colorant basique voisin du bleu de méthylène, mais donnant aux colorations un contraste plus accentué; il fournit d'excellentes images cytologiques, quant à la morphologie et à la basophilie cellulaire.

---

(1) Remarque orthographique. — Une règle de grammaire dit que, pour se féminiser, « les noms terminés par an, en, on, at, et, doublent la consonne finale avant l'addition du e muet » : « chat » - « chatte », « biquet » - « biquette », et donc « rat » donne « ratte ». Mais La Fontaine a écrit « rate » et l'usage semble avoir suivi cette graphie (dictionnaires), malgré quelques variantes : cela établit une exception à l'exception. Pour simplifier, nous écrivons intentionnellement « ratte », ce qui a du moins l'avantage d'éviter la confusion avec la « rate », qui est un organe.

Le violet de gentiane non phéniqué lui est associé par Nicoli, Plassé, Sempé et Erlicu (1969) pour permettre de déceler en même temps les bactéries.

Le réactif proposé par ces auteurs comprend : *a*) Bleu de toluidine à 1 %, 2 vol.; *b*) Violet de gentiane non phéniqué à 1 %, 1 vol. A cette solution, on ajoute, au moment de l'emploi, quantité égale de serum physiologique.

Phases du cycle. Leur détermination :

L'examen du frottis vaginal, traité comme on vient de le dire, permet de reconnaître les quatre phases essentielles du cycle de la ratte et, par conséquent, le moment voulu d'une fécondation.

a) Pro-oestrus : cellules régulières, nucléées, bien rondes, en amas;

b) Oestrus : cellules kératinisées, frottis bien plus colorés;

c) Post-oestrus : mélange de cellules nucléées, de polynucléaires et de grandes cellules kératinisées;

d) Di-oestrus : frottis peu abondant, avec mélange de toutes sortes de cellules; quelquefois, des cellules analogues à celles de l'oestrus, mais avec noyaux.

On sait que le cycle sexuel de la ratte s'étend sur un total de 4 à 5 jours, dont 12 heures pour le pro-oestrus, 12 heures pour l'oestrus, 12 heures pour le post-oestrus et 2 jours et demi pour le di-oestrus.

Ces conditions étant posées, on cherchera à localiser le moment à partir duquel on comptera les jours de la gestation.

De Mayer (1961), qui a expérimenté des gestantes plus particulièrement sous les rapports de la glycémie, a écrit : « Les rattes vierges sont mises en contact des mâles pendant 24 heures, à un moment favorable du cycle : le début de la gestation est conventionnellement fixé à la 12e heure de la cohabitation ».

Il m'a semblé possible d'abréger le délai de l'expectative. La femelle, choisie au stade oestrus, je la mets en présence du mâle et l'y laisse seulement de 12 à 14 heures, après quoi le mâle est retiré. Ce temps de cohabitation m'a toujours paru suffire : dans la phrase de De Mayer, il permet de remplacer le mot « conventionnellement » par celui de « réellement ».

En effet, j'effectue tout de suite le frottis vaginal et lui applique la méthode de coloration, puis l'examen microscopique. Si ce dernier montre les caractéristiques du stade oestrus, augmentées de la présence de spermatozoïdes, la fécondation, assurément, a eu lieu : on peut donc considérer, au plus tard comme début de

la gestation, l'instant de retrait du mâle. Le devenir des gestantes a toujours confirmé ces vues.

Il ne reste plus qu'à isoler la femelle pour la suite des opérations, en se rappelant que, chez la ratte, la gestation dure 21 jours.

Un insuccès éventuel peut très rarement se produire, qui ne constitue pas une exception, mais simplement une expérience manquée. Une femelle, au stade oestrus, chez laquelle les frottis vaginaux avaient montré la présence de spermatozoïdes, peut ne pas devenir gestante, soit que les frottis vaginaux trop poussés aient provoqué l'avortement (on trouve alors quelques débris dans la litière de copeaux), soit qu'ovule et spermatozoïdes ne se soient pas convenus ou bien qu'une malformation anatomique des organes génitaux de la femelle se soit opposée à leur rencontre.

Obtention d'un nombre suffisant de gestantes :

Préparer les femelles pour les avoir gestantes, en nombre convenable et au moment voulu, voilà un vrai problème de patience.

Je commençai d'abord sur un petit nombre de sujets.

Une première série comportait seize rattes, mises en accouplement à raison d'un mâle pour quatre femelles, dans une même cage : le lendemain, une seule était fécondée. Je recommençai avec celles qui ne l'avaient pas été, en les remettant en présence des mâles : cette fois-ci, aucun résultat. Mais il fallait persévérer, en renouvelant chaque fois, avec celles qui restaient non fécondées : au bout de trois semaines, sur le lot initial des 16, il y avait 8 gestantes.

Une deuxième série de suites d'accouplements a porté sur un nouveau lot de 16 rattes. Par la même méthode, au bout de deux semaines, j'obtenais 4 gestantes.

Devant cette pénurie de résultats, qui prenait en outre bien du temps, j'ai tenté une expérimentation plus massive, sur un lot de 76 femelles, toujours à raison de 1 mâle pour 4 femelles par cage. Le lendemain, 11 se révélaient gestantes, le surlendemain, 10 autres.

Ces 21 gestantes ont été constituées en 4 lots de 5, prévus pour l'administration du tolylboronate et le prélèvement consécutif du liquide céphalo-rachidien à des étapes déterminées de la gestation : 1er lot, vers le 6^{e} jour; 2^{e} lot, vers le 10^{e} jour; 3^{e} lot, vers le 15^{e}; 4^{e} lot, vers le 20^{e}, c'est-à-dire à la fin de la gravidité.

Bien entendu, j'ai affecté à des échéances intercalaires, et de divers ordres, les gestantes déjà obtenues avant cette opération massive.

Remarque sur la valeur des prélèvements :

Au moment d'aborder les résultats à obtenir de l'administration du tolylboronate, nous ne devons pas taire la difficulté du liquide céphalo-rachidien à se laisser parfois recueillir, en raison de son volume très faible chez le Rat : ce sont quelques gouttes qui s'écoulent de façon un peu inégale, aisément quand il est fluide et limpide, plus lentement quand il est un peu épais. Chez les femelles dont nous allons nous occuper, la récolte de ce liquide demande souvent plus de patience que chez les mâles précédemment étudiés.

Aussi, pour ne pas donner d'emblée une impression un peu trop dogmatique, nous indiquerons d'abord la valeur des dosages pour le prélèvement dans son entier, en précisant chaque fois le nombre de gouttes recueillies qui le composent.

Si l'on tient à convertir en volume, on peut estimer que, en moyenne, 10 gouttes de L.C.R. occupent 0,10 ml, 5 gouttes, de 0,048 à 0,050 (à cause des actions moléculaires ou phénomènes des ménisques), 1 goutte (mesurée au tube capillaire), 0,01 ml : on transformera ainsi en ml le volume.

Expérimentation sur rattes témoins non-gestantes.

Utilité de témoins. — Deux motifs nous feront traiter des femelles normales non-gestantes, pour servir de témoins. D'une part, nous avons opéré jusqu'à présent sur les mâles adultes : il est donc nécessaire de voir si les femelles normales ne présentent pas de différences à ce propos. D'autre part, il convient de faire des essais-témoins sur les femelles normales, en même temps et dans les mêmes conditions que sur les femelles gestantes.

Résultats. — Le prélèvement de liquide céphalo-rachidien est opéré à l'échéance de 2 heures après l'injection du metatolylboronate. Les teneurs en bore sont indiquées en μg.

1) Cas où le liquide céphalo-rachidien s'écoule clair et limpide, c'est-à-dire pur : la pénétration de l'aiguille a été parfaite et n'a causé aucune lésion, ni aucune micro-hémorragie.

Douze témoins : traces indosables;

2) Cas où le liquide céphalo-rachidien est très légèrement

nuancé de rose : le liquide qui s'est écoulé au début a reçu une dernière goutte mêlée d'un peu de sang.

Quatre témoins : traces;

3) Cas où le liquide céphalo-rachidien s'écoule coloré en rouge franc par mélange de sang : soit par suite d'une position défectueuse de l'aiguille, soit par hémorragie déterminée par la piqûre dans la grande citerne. Là encore, le processus est le même : les deux ou trois premières gouttes sont claires, puis sont relayées par un flux rouge apportant du sang.

Huit témoins : 1,2, 0,90, 0,90, 0,70, 0,60, 0,50, 0,42, 0,34.

Donc, après les administrations de tolylboronate de sodium, on ne décèle que des traces indosables de bore dans le liquide céphalo-rachidien pur, c'est-à-dire limpide et incolore, ni même quand il y a une nuance à peine rosée par un apport infime de sang. Le bore n'y parvient pas et cela est absolument conforme à ce que nous avons toujours observé chez les mâles : ainsi la règle est valable pour l'ensemble de l'espèce, sous ses deux sexes.

Il est évident que, si le prélèvement sort chargé de sang, on y trouvera le bore contenu dans ce sang.

Complément sur le sang de la région méningée. — Poursuivons notre recherche post-fonctionnelle, en complétant par le sang des parties méningées. L'aiguille étant restée en sa position de ponction du liquide céphalo-rachidien, c'est-à-dire la pointe arrêtée dans les espaces sous-arachnoïdiens, poussons-la très légèrement, afin qu'elle pénètre dans le plancher méningé (pie-mère et annexes) : opérons avec précaution, pour ne pas atteindre au-delà la matière cérébrale ou médullaire. Alors, du sang bien rouge s'écoule.

Dans une prise de 8 à 10 gouttes, la teneur en bore, en μg/ml est, selon les individus, la suivante :

Huit témoins : 1,40, 1,10, 0,90, 0,90, 0,90, 0,80, 0,58, 0,54.

Ces valeurs sont normales, nous savons que le bore passe dans le sang.

Cas probant d'un témoin occasionnel. — Parmi des rattes que nous avions considérées comme gestantes, il s'en est trouvée une que, d'après les frottis vaginaux, j'avais considérée comme telle et que j'avais mise alors en isolement pour la piquer au 20^{e} jour, c'est-à-dire presque à terme. Ce moment étant venu, j'ai procédé à l'injection du tolylboronate puis, deux heures après au prélèvement du liquide céphalo-rachidien. Contrairement à mon attente, celui-ci, très limpide, ne présentait que des traces

indosables de bore, — ce qui est contraire à ce que nous allons voir chez les gestantes. L'autopsie m'a alors montré que l'animal n'était pas gravide, ce qui confirme singulièrement, et de façon inattendue, les résultats précédents sur les témoins.

Expérimentation sur les rattes gestantes.

Nous rappelons les conditions de prélèvement : chaque prise, qui correspond à une femelle différente, est indiquée en nombre de gouttes, puis vient sa teneur de bore en µg par ml.

Les injections de metatolylboronate sont échelonnées aux jours successifs de la gestation, de manière à suivre dans le liquide céphalo-rachidien l'évolution de la teneur en bore selon l'évolution de cet état physiologique.

Prélèvements de L.C.R. effectués à l'échéance uniforme de 2 heures après l'injection intrapéritonéale de metatolylboronate.

TENEUR EN BORE

DANS LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN DES FEMELLES GESTANTES APRÈS ADMINISTRATION DE MÉTATOLYLBORONATE

Résultats en microgrammes de bore par ml (µg/ml)

Jour de la gestation	Nombre de gouttes du prélèvement	Caractère du L.C.R.	Dose de bore dans la prise	Dose de bore en µg/ml
1er	8		traces	indosables
3e	9		traces	indosables
5e	8		traces	indosables
7e	5	très limpide	traces	
—	10	limpide	0,43	4,3
—	10	limpide	0,41	4,1
10e	6	très limpide	0,32	5,3
—	8	très limpide	0,52	6,5
—	5	très limpide	0,35	7
—	5	à peine teinté	0,30	6
15e	8	limpide	0,33	4,1
—	7	limpide	0,46	6,5
—	7	limpide	0,35	7
20e	8		0,36	4,5
—	7		0,36	5,2
—	7		0,64	9,1
—	6		0,52	8,6
—	7		0,56	8
22e	6		traces	
lendemain de la mise-bas	8		traces	

Influence de la gestation sur le passage du bore dans le liquide céphalo-rachidien.

Les résultats des expérimentations précédentes sont aussi nets que remarquables. Injecté dans l'organisme sous forme de metatolylboronate de sodium, le bore, qui ne se retrouve pas normalement dans le liquide céphalo-rachidien des rats et des rattes, s'y retrouve chez les rattes en période de gestation (F. Caujolle et Gh. Dousset, 1971, Gh. Dousset, 1971).

Cette pénétration commence à s'y manifester vers le 4e ou le 5e jour de cette période. Elle y revêt une valeur notable : selon les sujets, de 7 à 4,1 μg/0,1 ml. Le maximum est atteint vers la fin, à la suite des piqûres du 20e jour, avec une teneur de 9,1 μg B/0,1 ml.

Cela cesse immédiatement après, puisque, le lendemain de la mise-bas, la teneur est retombée à l'état de traces indosables. Le bore ne se trouve donc plus dans ce liquide, tout comme chez les mâles et chez les femelles non-gestantes, c'est-à-dire normalement.

Ces résultats peuvent paraître surprenants. Cela ne souffre aucune impossibilité, pas plus apparente que réelle. On sait les modifications très sensibles que la physiologie d'une femelle subit en rapport avec son évolution d'activité génitale (Siou et De La Grancière, 1969) : ainsi, la régulation hormonale entre le transfert d'acide ribonucléique et celui des enzymes méthylés de cet acide pendant le développement des glandes mammaires (Turkington, 1969) ; ou encore les relations entre la sécrétion des stéroïdes ovariens et l'hormone lutéinisante (corps jaune), au cours du cycle de l'oestrus (Miyake, 1969) ; ou, d'une manière plus générale, l'action des sécrétions hormonales sur le degré de la perméabilité méningée (Gellhorn et Régnier, 1936).

Entre autres, la gestation s'accompagne d'un cortège de phénomènes qui entraînent des modifications dont certaines sont bien classiques : augmentation de la capacité d'assimilation du glucose, — accroissement de l'excrétion urinaire des hormones actives, — hypertrophie des surrénales, etc. Les sécrétions hormonales de cette période sont extrêmement poussées et, par certains points, particulières.

On a noté encore que, pendant la menstruation et au cours de la grossesse, la perméabilité de l'ensemble des capillaires est augmentée et continue quelque peu après l'accouchement; mais, pour les capillaires intervenant dans la barrière hémato-encéphalique, l'augmentation de perméabilité due à cette gros-

sesse cesse immédiatement après elle (Leinson et Peterson, 1927).

Une influence bien plus curieuse du moment de la gestation a été signalée, à une date toute récente (Burton, Cunliffe, Millar et Sam Shuster, 1970), sur la sécrétion du sebum de la peau du front chez la femme, pendant le deuxième et le dernier trimestre de la grossesse, avec ralentissement important dans la période du *post-partum*. Probablement, un puissant facteur sebotrophique est présent dans la grossesse, mais sa nature est conjecturale.

Dans le cortège de ces réactions physiologiques, et probablement en relation avec elles, le passage du bore dans le liquide céphalo-rachidien trouve sa place, comme un processus temporaire de la perméabilité méningée. Il faudra revenir sur ce problème, à propos de la conception de la barrière hémato-encéphalique.

Chapitre III

NON-DIFFUSION DU BORE DANS LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN DU LAPIN NORMAL

Après avoir opéré sur le rat et sur les rattes gestantes, nous avons pensé utile de compléter nos recherches en traitant une autre espèce et avons choisi, pour ce faire, le Lapin, plus précisément la Lapine : nos sujets d'expérience appartiennent à la race « Fauve de Bourgogne ». Leur nourriture est un aliment composé.

Composition :

Orge, maïs, avoine, luzerne deshydratée, levure, arachide, repasse de blé.
Composé minéral vitaminé.

Garantie maximum :

Humidité	14 %
Matières cellulosiques	14 %
Matières minérales	8 %

Garantie minimum :

Matières protéiques brutes	16 %
Matières grasses	2 %

Vitamines (aux 100 kg) :

A	1.000.000 U.I.
D_3	250.000 U.I.
B_{12}	400 α
Acide nicotinique	4.000 mg

Quant à leur poids, il oscille, selon les sujets, entre 1,7 kg et 4,8 kg.

Technique.

La même technique que celle suivie pour le rat a été adoptée, mais en l'adaptant à la taille et à la vigueur de l'animal. Pour le prélèvement du liquide céphalo-rachidien, la méthode est conforme à celle selon Lépine.

Le point le plus difficile est, ici, la contention du sujet, qui est fort et se débat au point parfois de briser sa colonne vertébrale. On doit tenir ensemble, dans la main droite, les quatre pattes de l'animal et, avec la main gauche, rabattre les oreilles sur le museau et coincer l'ensemble de la tête. En empêchant cet animal de remuer, on l'incline et on présente à l'opérateur la nuque, préalablement rasée, pour permettre la ponction par l'aiguille. Si la contention est bien assurée, le prélèvement n'offre aucune difficulté. Entre l'occipital et la première vertèbre cervicale, on cherche à introduire l'aiguille (de 4 cm de longueur et de 10/10e de mm de diamètre). L'enfoncement demande quelque précaution; puis, quand la membrane est traversée, le liquide céphalo-rachidien s'écoule.

Le traitement préalable des animaux a été réalisé au metatolylboronate de sodium en solution aqueuse à 10 %, à la dose de 0,20 g/kg, injecté par voie I.P.

Les prélèvements de liquide céphalo-rachidien sont toujours faits à l'échéance uniforme de 2 heures après l'injection.

Résultats.

Nous avons d'abord opéré sur des lapines normales, non traitées au metatolylboronate de sodium, pour servir de témoins sur le sexe. Il en est résulté que, chez les lapines à l'état normal, le bore ne se rencontre pas dans le liquide céphalo-rachidien, avant toute expérimentation. C'est conforme à ce que nous avons observé chez les rattes, dans les mêmes conditions.

TENEURS EN BORE DANS LE L.C.R. DE LAPINES TÉMOINS NON TRAITÉES

Résultats en µg de bore par ml

Poids de l'animal	Nombre de ml de L.C.R. recueillis	Caractère du L.C.R.	Dose de bore en µg/ml
1,90 kg	0,18	limpide	pas de traces
3,25 kg	0,20	très limpide	pas de traces

Nous avons ensuite procédé aux expérimentations avec les injections de metatolylboronate de sodium. Voici les résultats des dosages sur les échantillons de L.C.R. prélevés après leur traitement (échantillons, sauf un, rigoureusement sans apport de sang).

TENEURS EN BORE DANS LE L.C.R.
DES LAPINES NORMALES
APRÈS ADMINISTRATION DE MÉTATOLYLBORONATE DE SODIUM
Résultats en µg/ml

Poids des lapines	Nombre de ml de L.C.R. recueillis	Caractère du L.C.R.	Dose de bore en µg/ml
3 kg	0,2	très limpide	traces
1,7 kg	0,2	limpide légèrement teinté de sang	traces
2,3 kg	0,2	très limpide	traces
2,045 kg	0,2	limpide	traces
2,8 kg	0,2	limpide	traces
2,85 kg	0,2	limpide	traces
3,2 kg	0,2	limpide	traces

CONCLUSIONS.

Chez les lapines normales (non gestantes), l'injection de metatolylboronate de sodium n'entraîne le passage d'aucune quantité de bore en dose appréciable dans le liquide céphalo-rachidien.

Chapitre IV

DIFFUSION DU BORE DANS LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN DE LA LAPINE GESTANTE

Technique.

Les lapines gestantes ont été obtenues par les soins de M. le docteur vétérinaire Faure, dans les animaleries du Centre des toxicités, par la méthode de l'insémination artificielle. Dans ces circonstances, nous étions sûrs du moment de début de la gestation.

La durée de la gestation chez la lapine est de 30 jours.

L'expérimentation avec le metatolylboronate de sodium s'est faite de la même manière que pour les rattes, en tenant compte, bien entendu, des doses en fonction du poids des sujets. Prélèvement du L.C.R. (exempt de sang) effectué 2 heures après l'administration du metatolylboronate de sodium.

Résultats.

TENEURS EN BORE DANS LE L.C.R.
DES LAPINES GESTANTES
APRÈS ADMINISTRATION DE MÉTATOLYLBORONATE
Résultats en μg B/ml

Jour de la gestation	Poids du sujet en kg	Nombre de ml du prélèvement	Caractère du L.C.R.	Dose de bore en μg/ml
7e	2,7	0,2	limpide	2,5
—	3,6	0,2	limpide	3,1
—	3,8	0,2	limpide	3,5
14e	3,75	0,2	très limpide	2,2
—	4,85	0,2	très limpide	3,5
21e	3,6	0,2	limpide	2,0
—	3,3	0,2	très limpide	2,5
—	3,1	0,2	limpide	3,1
28e	3,27	0,2	limpide	2,3
—	3,32	0,2	très limpide	2,6
—	3,35	0,2	limpide	3,1

Conclusions.

Le bore qui, après l'administration de metatolylboronate de sodium, ne passe pas dans le liquide céphalo-rachidien des lapines normales, s'y retrouve en quantités très appréciables chez les lapines gestantes. Nos expérimentations sur cette espèce confirment pleinement ce que nous avons établi chez les rattes, à savoir que la gestation modifie de façon très importante, et sous ce rapport, le fonctionnement de la barrière hémato-encéphalique.

La quantité de bore ainsi décelée dans le L.C.R. des lapines gestantes varie entre 2 et 3,5 μg/ml. Son ordre de grandeur se maintient ainsi assez constant, du début à la fin de la gestation : la perméabilité de la barrière paraît donc modifiée dès les premiers jours et le reste dans les mêmes proportions jusqu'aux derniers de cet état physiologique particulier. Après mise-bas, on retrouve le cadre des femelles-témoins : le bore disparaît du L.C.R.

Par rapport aux rattes gestantes, cette teneur dans le L.C.R. des lapines gestantes est, en gros, deux fois moindre, sinon encore moins. On peut penser que la réceptivité de ces lapines est deux fois plus faible que celle des rattes.

En continuant de comparer, on remarquera que, chez les rattes gestantes, les teneurs variaient plus, suivant les individus, suivant les moments, et que leurs maximales sont atteintes de préférence vers la fin de la gestation.

Chapitre V

LOCALISATION CÉRÉBRALE DU BORE

Recherches antérieures.

La pénétration du bore et son accumulation dans le système nerveux central sont des faits bien établis. Mac Mally et Rut l'ont déjà signalé en 1928.

Pfeiffer, Hallman et Gersch (1945) également, à la suite d'intoxications accidentelles chez l'enfant ou expérimentales chez le chien. Ils montrèrent que, s'il n'a guère de résultat toxique efficacement sous la forme d'une dose unique, même grande, l'acide borique en a un au contraire très caractérisé avec des doses plus faibles, mais répétées. Le bore s'accumule en effet dans le cerveau, comme dans le foie et dans les corps gras : il s'y concentre de préférence dans la matière grise, comme dans la moëlle épinière, mais se loge aussi dans la matière blanche.

Locksley et Sweet (1954), dans un travail dont nous userons plus loin, à propos de la tumeur cérébrale qui en est l'objet principal, donnent des précisions qui concernent d'abord l'organe normal. A la suite d'injection intra-péritonéale de borate de sodium, chez la souris, le bore est absorbé et se distribue très vite dans les tissus. Après 30 minutes, tous les organes ont atteint un taux maximum d'absorption, sauf le cerveau; mais la teneur cérébrale augmente ensuite, au-delà de la 30e minute. Après 3 heures, la teneur en bore de tous les tissus, y compris le cerveau, semble être en équilibre avec le sang. Ils perdent alors le bore par excrétion par le rein et les fèces, comme l'urée et les sulfates.

Messner et Trauther (1955) signalent également l'accumulation de l'acide borique dans le cerveau, particulièrement dans la matière grise.

Caujolle et Gayrel (1955) font sur le chien une série de recherches, parmi lesquelles nous glanons la vérification d'une véritable accumulation de bore dans le cerveau à la suite d'intoxication expérimentale.

Soloway (1958) a consacré des études de longue haleine, systématiques, à la pénétration dans le cerveau normal et dans

les tumeurs cérébrales, de certains acides boroniques aromatiques. Il se proposait de connaître les caractères nécessaires à une molécule pour qu'elle soit retardée en son passage du sang au cerveau ou, au contraire, accélérée en son passage du sang à la tumeur cérébrale.

Une idée générale lui a paru se dégager, celle d'un rapport direct entre une pénétration du bore dans le cerveau et un faible coefficient de partage hydro-benzénique : les composés qui entrent le plus facilement dans le cerveau seraient ceux qui se rencontrent préférentiellement dans le solvant lipidique, le benzène.

Parmi les très nombreux produits que Soloway a examinés, trois groupes se détachent :

— Premier groupe : les acides m. carbamido, m. carboxy. et p. carboxyphenylboroniques ont un facteur de localisation tumeur/cerveau supérieur à 3 et ce coefficient de partage eau-benzène plus grand que 50-60;

— Deuxième groupe : les acides o. nitro, p. méthoxy et l'acide phenylboronique non-substitué ont un facteur de localisation voisin de 1 et le coefficient de partage était de 5 à 7;

— Troisième groupe : l'acide p. tolylboronique et l'acide p. chlorophénylboronique ont un facteur de localisation tumeur/cerveau de 0,2-0,3, ce qui semble montrer que leur pénétration dans le cerveau a rencontré une voie qui la rend plus facile. Leur coefficient de partage eau-benzène était de 1 à 2.

BORON CONCENTRATIONS AND RADIOS

Time of sacrifice (mm)	Concn. of B µgB/g of tissue tumor	brain	Localization factor (Tumor/Brain)	Concn. of B µg/ml of solvant Aqueous medium	Benzene	Partition coefficient (aqueous/benzene)
m. Carbamidophenylboronic acid (dose : 35 µg/g)						
15	12	2	6.0			
30	18	2	9.0			
60	24	4	6.0	10.9	< 0.2	> 54
120	18	6	3.0			
180	15	6	2.5			
m. Carboxyphenylboronic acid (dose : 140 µg/g)						
15	57	10	5.7			
30	63	8	7.5			
60	61	10	6.1	12.1	< 0.2	> 60
120	60	13	4.6			
180	55	13	4.2			

p. Carboxyphenylboronic acid (dose : 140 µg/g)						
15	44	11	4.0			
30	68	10	6.8			
60	62	8	7.7	11.4	< 0.2	> 57
120	47	9	5.2			
180	38	8	4.7			
p. Methoxyphenylboronic acid (dose : 35 µg/g)						
15	29	44	0.7			
30	33	40	0.8			
60	34	38	0.9	13.1	2.5	5
120	36	34	1.1			
180	30	26	1.2			
Phenylboronic acid (dose 35 µg/g)						
15	34	51	0.7			
30	34	44	0.8			
60	29	30	1.0	14.4	2.3	6
120	26	29	0.9			
180	34	40	0.8			
o. Nitrophenylboronic acid (dose : 35 µg/g)						
15	25	41	0.6			
30	29	41	0.7			
60	26	36	0.7	12.6	1.9	7
120	41	49	0.8			
180	43	50	0.9			
p. Chlorophenylboronic acid (dose 35 µg/g)						
15	13	69	0.2			
30	19	66	0 3			
60	33	57	0 6	6.9	5.6	1
120	32	58	0.6			
180	30	51	0.6			
p. Tolylboronic acid dose : 35 µg/g)						
15	18	53	0.3			
30	20	44	0.5			
60	30	37	0.8	8.0	5.2	2
120	31	25	1 2			
180	29	18	1.6			
m. Aminophenylboronic acid (dose : 35 µg/g)						
15	25	21	1.2			
30	32	26	1.2			
60	28	23	1.2	12.4	< 0.2	> 62
120	22	17	1.3			
180	16	13	1.2			

Il reconnaît l'acide paratolylboronique très toxique et fort actif, et le range dans le groupe des composés qui ont des effets maximaux sur le système nerveux central et qui sont ceux réa-

lisant leur plus grande accumulation dans le cerveau normal, — ceux qui se concentrent le plus dans le benzène.

Initialement, cet acide paratolylboronique présente un facteur de localisation de 0,3; mais progressivement, ce taux s'inverse et, après une échéance de trois heures, la concentration dans une partie tumorale est presque deux fois égale à celle qu'on observe alors dans la partie cérébrale saine.

Soloway, Whitman et Messner (1960) s'informent du mécanisme d'action de la barrière hémato-encéphalique. En cette nouvelle étape de recherche, ils se préoccupent de déceler quels pourraient être, sur l'acide phénylboronique, les substituants qui aident ou, au contraire, atténuent la pénétration dans le système nerveux central. D'après leurs conclusions, au sein d'un groupe isolé d'éléments non métalliques dans le tableau périodique, plus est élevé le poids atomique de l'élément fixé au même copule organique, plus la solubilité lipidique augmente, et — l'on peut ajouter — plus cela influe sur la pénétration.

Notons, au passage, que l'acide metatolylboronique possède, d'après ces auteurs, une solubilité lipidique totale et, de ce fait, pénètre facilement. Le remplacement des H sur le groupe méthylique par des atomes de fluor déplace le coefficient de partage vers une valeur encore plus basse.

Toutefois, on fait remarquer que, si la solubilité lipidique est un facteur important, elle ne constitue assurément pas le seul facteur intervenant dans la perméabilité cérébrale. Le groupement hydrophile paraît jouer un rôle. La concentration dans le cerveau est évidemment liée à la permanence du produit qui l'a pénétré (possibilités de rejet, métabolisme).

Kaufman et ses collaborateurs, en 1961, citent la cumulation du bore dans le cerveau.

Jaspersen et Schlumpf (1969), faisant le procès des utilisations thérapeutiques de l'acide borique, récapitulent de nombreux cas d'intoxications par suite de l'accumulation de bore dans le cerveau et mettent en valeur le caractère cumulatif de cette fixation.

Parmi les isomères que nous avons expérimentés (D. Caujolle, F. Caujolle et Gh. Dousset, 1970), nous signalerons que le metatolylboronique avait été dit par Soloway, Whitman et Messer de solubilité totale dans le solvant lipidique et donc de pénétration facile. Nos expérimentations ont renforcé singulièrement cette vue, puisqu'elles nous ont montré que l'entrée dans le cerveau de cet isomère meta est de beaucoup la plus facile, plus

que celle de l'isomère ortho, et bien plus que celle de l'isomère para.

Expérimentation et résultats.

Les hémisphères cérébraux proprement dits, sans le cervelet ni le bulbe, seront examinés en leur entier : nous rechercherons si le bore pénètre dans l'ensemble de cet organe, sans nous attacher à la topographie de la localisation.

Technique.

Nous avons d'abord vérifié l'absence de bore dans le cerveau de rat à jeun, aux doses même minimes décelables par nos méthodes habituelles.

On n'opérera évidemment qu'à des doses inférieures à la valeur des doses toxiques respectives, telles qu'elles sont déterminées précédemment.

Les sujets auront été mis à jeun depuis 24 heures. Sur eux, on procède aux injections intrapéritonéales des sels sodiques des divers acides, en solutions aqueuses, isotonisées au chlorure de sodium, ajustées à pH = 9.

La quantité est injectée en une administration unique : elle correspond à une dose de 0,20 g/kg exprimée en acide libre. Elle sied bien pour les isomères meta et para, qui permettent une longue durée des observations, — mais moins pour l'ortho qui, plus toxique, ne laisse pas porter les observations au-delà d'une heure, puisque les sujets qui l'ont reçu succombent après cette durée.

On sacrifie alors les animaux par décapitation, à des échéances de temps sériées à partir de l'instant de l'administration : 3, 5, 10, 15, 30, 60 mn et, en outre, 2, 4, 8, 18, 24 heures pour les isomères meta et para, les seuls permettant de dépasser l'heure d'expérimentation.

En vue de chaque cas d'échéance particulier, on doit avoir prévu des lots de 6 à 8 rats, de 250 g environ chacun, et ce afin d'obtenir des moyennes valables.

Sont prélevés tout de suite les échantillons du sang et la totalité des hémisphères cérébraux (sans cervelet ni bulbe, comme dit) : on dosera en effet le bore dans le sang total, en parallèle avec les dosages dans le cerveau, pour avoir un terme de comparaison avec le torrent circulatoire du même sujet.

Chacune des matières plélevées est séchée à l'étuve à 105°. On broie l'extrait sec ainsi obtenu, dans lequel sera enfin dosé le bore total.

Pour cela, on adopte une prise d'essai très exactement pesée et correspondant à 100-150 mg d'échantillon frais.

Le dosage est fait par spectrographie d'émission, suivant la méthode générale qui a été indiquée, celle de G. Pitet, J. Oustrin et R. Caujolle (1968).

Résultats : variations et moyennes.

Sous le rapport envisagé spécialement ici, celui du cerveau, j'ai procédé à 900 dosages environ, portant sur un ensemble de 250 animaux. Chacun des résultats spectrographiques repose sur deux déterminations densitométriques.

Dans toutes les séries, c'est très exceptionnellement que j'ai eu l'occasion d'observer des *variations individuelles notables*, qui soient bien accentuées. A certains stades, les divers sujets peuvent en être à des étapes assez différentes de pénétration par le bore — et l'exemple le plus net que j'en puisse fournir est celui de l'acide paratolylboronique à l'échéance de 5 mn où, selon le sujet, le cerveau peut avoir de 5,07 à 52 μg B/g. Mais c'est là un cas extrême, révélateur de la lenteur ou de la rapidité plus grande de réception et de propagation interne chez certains individus que chez d'autres. Toutefois, il ne nous paraît pas inutile d'indiquer dans chaque cas particulier l'amplitude des variations observées au sein du groupe des individus concernés.

Malgré de telles rares exceptions, la plupart des sujets se répartit autour des valeurs moyennes qui, de ce fait, donnent convenablement une idée de la réalité.

On a, de plus, fait appel à la statistique, bien que le nombre, pourtant assez notable, de nos expérimentations soit infime à l'échelle de celui que voudrait cette méthode et ne lui fournisse qu'une base peu large. On trouvera ici, calculées par elles, les limites de l'intervalle de confiance (m^1-m^2) de la moyenne m, exprimée en μg B/g, au seuil 5 %.

TENEUR EN BORE DANS LE CERVEAU

Valeurs individuelles et valeurs moyennes

Pour chaque échéance de temps, nous indiquons, exprimés en leur valeur en μg B/g : *iv*, les intervalles des variations suivant les divers sujets, c'est-à-dire les valeurs minima et les valeurs maxima observées; — *m*, les valeurs moyennes, établies d'après le nombre de sujets de chaque échéance; — *ic*, les limites de l'intervalle de confiance (m^1-m^2) de la moyenne m au seuil 5 % (calculé statistiquement), placées entre parenthèses.

Les nombres obtenus avec chacun des trois acides sont sur la même rangée de l'échéance, pour permettre entre eux une comparaison utile.

Temps		Acide meta-tolylboronique	Acide meta-tolylboronique	Acide para-tolylboronique
3 mn	iv	18-22	18 -26	10,9-15
	m	20	22	12,4
	ic	(17,4-22,6)	(12 -32)	(9,7-15,3)
5 mn	iv	19-26	40,7-69	5,07-52
	m	22,5	51	21,6
	ic	(18 -27,6)	(34,7-67,7)	(9,4-15,2)
10 mn	iv	20-25	32 -39	5 -26
	m	22	36	15
	ic	(18,1-26,4)	(31 -41)	(6,3-23,7)
15 mn	iv	30-43	21 -29	2,2-11,5
	m	38,3	25	6,6
	ic	(20,3-56,3)	(20 -30,6)	(3,3- 8,1)
30 mn	iv	34-46	49 -60	4,3-15
	m	39,9	54,2	10,4
	ic	(31,3-48,7)	(46,5-61,5)	(8,1-12,7)
1 h	iv	60-74	50 -76	5 - 9,6
	m	66,5	60	7,6
	ic	(57 -76)	(49,4-76,2)	(6 - 9,2)
2 h	iv		66 -83	6 -13
	m		70	9,2
	ic		(66,5-82,3)	(6,9-11,7)
4 h	iv		38 -62	9,2-12
	m		52	10,8
	ic		(40,8-63,8)	(9 -12,6)
8 h	iv		14 -51	9,1-10
	m		26	9,4
	ic		(11,3-26,3)	(8,2-10,8)
12 h	iv		traces	traces
	m		0	0
	ic		0	0
18 h	iv		traces	traces
	m		0	0
	ic		0	0
24 h	iv		0	0
	m		0	0
	ic		0	0

Dosage comparatif dans le sang.

Il importe de comparer les teneurs de bore dans le cerveau avec celles dans le sang et sous les mêmes conditions.

TENEUR EN BORE DANS LE SANG

Valeurs individuelles et valeurs moyennes
(même notation que pour le tableau de la teneur en bore dans le cerveau).

Temps		Acide ortho-tolylboronique	Acide meta-tolylboronique	Acide para-tolylboronique
3 mn	iv	10,5-12	5 - 6	1,2- 2,6
	m	11,2	5,4	1,8
	ic	(10,8-12,6)	(4,1- 6,7)	(1 - 2,8)
5 mn	iv	13,5-13,5	4,6-10,5	1,4- 6,6
	m	13,5	7,3	3,4
	ic	(13,5-13,5)	(3,8-11)	(2,6- 4,4)
10 mn	iv	10 -15,5	8 - 9	2,5- 5,2
	m	12,5	8,9	4
	ic	(8,5-16,5)	(8 - 9,6)	(2,8- 4,9)
15 mn	iv	16 -17	5,2- 9	2,4-18
	m	16,6	7,5	14
	ic	(15,3-18,1)	(4,5-10,1)	(9,7-16,3)
30 mn	iv	10 -19	7 - 7,5	3,8-24
	m	13,7	7,3	11,8
	ic	(6,6-21)	(6,7- 7,5)	(8,1-17,1)
1 h	iv	7 -10	20 -20	11 -24
	m	8,5	20	12,1
	ic	(6,6-10,6)	(20 -20)	(12,1-23,9)
2 h	iv		20 -21	traces- 5
	m		21	2,4
	ic		(20 -20)	(2,1- 4,3)
4 h	iv		16 -20	1,7- 3
	m		20	2,5
	ic		(13 -23)	(1,6- 3,4)
8 h	iv		7 -12,8	2,2- 3,6
	m		9,6	2,9
	ic		(5,7-13,5)	(1,3- 4,6)
12 h	iv		4 - 4,2	3,7- 3,9
	m		4,1	3,8
	ic			
18 h	iv		3 - 5,5	2 - 3,9
	m		3,9	2,9
	ic		(0,7- 7,3)	(3 - 4,4)
24 h	iv		0	0
	m		0	0
	ic		0	0

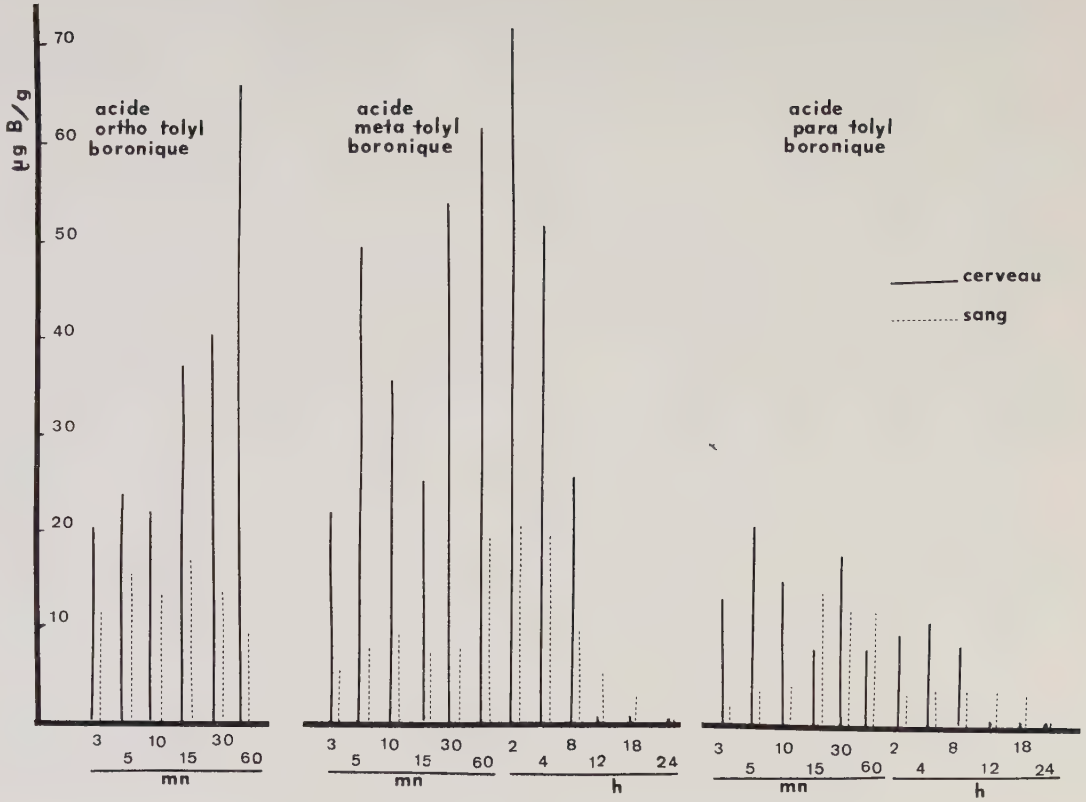


FIG. 2. — *Evolution de la localisation du bore dans le cerveau et dans le sang des rats normaux, pour chacun des acides o, m, p tolylboroniques.*

En abscisses, les échéances de temps après l'administration. En ordonnées, la teneur en µg B/g.

Rapport entre les concentrations dans le cerveau et dans le sang total.

Il paraît tout d'abord utile de rapprocher côte-à-côte (fig. 2) les teneurs moyennes relatives au cerveau et celles relatives au sang, pour mieux comparer l'évolution, parallèle dans ces deux milieux, mais non rigoureusement synchronique au début, pour la propagation du bore, puisque l'injection commence à mettre celui-ci d'abord dans le torrent circulatoire.

Les valeurs apparaîtront bien groupées, surtout aux échéances supérieures à 15 mn, pour le dérivé ortho, et à celles comprises entre 10 mn et 2 h, pour les dérivés meta et para.

COMPARAISON DES ÉVOLUTIONS DE LA TENEUR EN BORE ÉLÉMENT DANS LE CERVEAU ET DANS LE SANG TOTAL

Les teneurs sont µg de bore par gramme de cerveau (C) et par millilitre de sang total (S).

Echéances de temps en mn et en h :

	3 mn	5 mn	10 mn	15 mn	30 mn	1 h	2 h	4 h	8 h	18 h	24 h
Acide orthotolylboronique :											
C	20,0	22,5	22,0	38,3	39,9	66,5					
S	11,2	13,5	12,5	16,6	13,7	8,5					
Acide metatolylboronique :											
C	22,0	51,0	36,0	25,0	54,2	60,0	70,0	52,0	26,0	tr.	tr.
S	5,4	7,3	8,9	7,5	7,3	20,0	21,0	20,0	9,6	3,9	tr.
Acide paratolylboronique :											
C	12,4	21,6	15,0	6,6	10,4	7,6	9,2	10,8	9,4	tr.	tr.
S	1,8	3,4	4,0	14,0	11,8	12,1	2,4	2,5	2,9	2,9	tr.

Il semble intéressant d'établir le rapport des concentrations du bore dans le cerveau et dans le sang des sujets correspondants.

Le tableau, qui traduit cette vue, traduit en réalité la résultante ou la somme des phénomènes de fixation, de défixation et d'excrétion relatifs au bore sous les conditions que nous avons déterminées. Ces phénomènes prennent évidemment place parmi les aspects d'un métabolisme plus général, à l'étude duquel F. Caujolle, F. Fauran, Dang Quoc Quan et A.M. Bonnell (1970) ont apporté leur contribution.

RAPPORT DES CONCENTRATIONS EN BORE ÉLÉMENT
ENTRE LE CERVEAU ET LE SANG TOTAL

Echéances en mn et en heures.

3 mn	5 mn	10 mn	15 mn	30 mn	1 h	2 h	4 h	8 h	12 h	18 h	24 h
Acide orthotolylboronique :											
1,79	1,67	1,78	2,31	2,91	7,73						
Acide metatolylboronique :											
4,08	6,99	4,04	3,33	7,58	3,10	3,60	2,74	2,71			
Acide paratolylboronique :											
4,89	6,35	3,75	0,47	1,51	0,63	3,83	4,32	3,24			

CONDITIONS DE LA PÉNÉTRATION CÉRÉBRALE DU BORE.

La fixation cérébrale des divers acides tolylboroniques demeure sous la dépendance des structures chimiques; l'isomère para, le moins toxique, ne réalise pas des taux si élevés et si préférentiels que ceux atteints par les isomères ortho et meta. Cette conclusion a déjà été énoncée par F. CAUJOLLE, D. CAUJOLLE et Gh. DOUSSET.

L'examen des tableaux consignant les résultats et celui du graphique qui les synthétise (fig. 2) permet de brosser une esquisse d'ensemble.

1) Dès l'échéance de 3 mn, on constate une localisation du bore plus forte dans le cerveau que dans le sang; et cela se retrouvera à toutes les échéances. La divergence est plus accusée après l'administration des isomères meta et para qu'après celle de l'isomère ortho;

2) Après le moment de l'administration et pour chacun des trois isomères, on note deux phases dans la fixation cérébrale du bore :

a) Dans un délai de 15 mn, une *première phase de fixation maximale* du bore qui, pour l'acide meta et pour le paratolylboronique, survient après 5 mn (alors que le sang ne contient encore qu'une faible proportion de ce bore) et, pour l'acide ortho, après 15 mn;

b) Entre la 15e et la 30e mn, une *deuxième phase de fixation maximale,* qui se caractérise par une augmentation plus accusée du bore cérébral, très importante surtout après l'administration des isomères ortho et para.

3) Après une heure, seules les localisations après épreuves aux isomères meta et para peuvent être étudiées, puisque nous avons dit que les animaux traités à l'acide ortho ne survivent pas. Après 2 à 4 heures, la teneur dans le cerveau diminue rapidement, et après 18 heures on n'y trouve plus que des traces de bore, tandis que le sang, qui est très peu chargé en bore (surtout avec l'isomère para), en contient encore une très faible quantité.

Comportements comparés des divers isomères.

L'acide orthotolylboronique se caractérise par la précocité de sa fixation cérébrale, qui continue à s'affirmer jusqu'à la fin de l'observation (d'une heure seulement) et qui continuait à croître, alors que le taux sanguin commençait à décroître.

L'acide metatolylboronique parvient également à une fixation cérébrale très élevée, qui décroît entre la 2e et la 4e heure, pour s'annuler à partir de la 12e, alors que le taux sanguin en bore continue à être appréciable.

L'acide paratolylboronique ne réalise, lui, qu'une fixation cérébrale réduite, qui décroît rapidement après la 8e heure, c'est-à-dire un peu moins tôt que ne l'avait fait l'isomère meta.

Condition adjuvante de la circulation cérébrale artérielle.

La promptitude de l'arrivée du bore dans le cerveau et celle, encore plus vive, avec laquelle il s'y concentre, sont évidemment en relation avec une voie, d'apport particulièrement aisé, la richesse de l'appareil artériel cérébral.

Nos résultats ont été obtenus sur des rats. Combien peut-on penser qu'ils seraient plus accentués chez l'Homme, qui est orthostatique, où cet appareil est si spécialement développé, que Lazorthes (1965) a pu écrire : « La circulation cérébrale artérielle de l'homme diffère de celle des mammifères quadrupèdes; l'adaptation circulatoire au *status erectus* n'existe pas chez la plupart des animaux d'expérience, qui sont capables de garder longtemps la position verticale sans accident. » Cette circulation cérébrale fonctionne chez l'Homme de façon très complexe : l'encéphale n'y a pas, comme les autres organes, un seul pédicule, mais quatre grosses artères qui forment trois pédicules et il a, de plus, l'avantage de posséder de nombreuses « voies de suppléance ».

En conséquence, le débit sanguin cérébral, c'est-à-dire le volume de sang qui traverse le cerveau pendant une unité de temps (on l'exprime en général par minute), a-t-il une certaine

importance chez l'Homme (Lazorthes, 1970) : 750 ml par mn, soit 14 % du sang total !

Si l'on préfère, on peut rapporter ce débit, non plus à la totalité de cet organe, mais à 100 g de sa substance (méthode de Kety et Schmidt, 1945) : il correspond alors à 50 ou 52 ml/100 g/mn.

Le cheminement du bore vers le cerveau ne peut qu'être favorisé par l'irrigation amenée par un tel système circulatoire.

Il demeure évident que le liquide céphalo-rachidien peut constituer une voie d'apport supplémentaire — que nous aurons à étudier ultérieurement (Wepierré et Lindenbaum, 1971).

Chapitre VI

LOCALISATIONS DANS LE CERVEAU A L'ÉCHELLE DES STRUCTURES SUB-CELLULAIRES

Méthodes d'étude.

Si des relations peuvent être mises en évidence entre l'isomérie et les fixations cérébrales, il convient évidemment de rechercher, pour les trois isomères, les sites accepteurs, c'est-à-dire les points précis capables de recevoir et de fixer sélectivement le bore.

En ce but, nous avons entrepris l'étude des fixations préférentielles dans le cerveau, à l'échelle des structures sub-cellulaires, celles qui sont du domaine de l'histologie et de la cytologie.

Bien entendu, il s'agira ici des hémisphères cérébraux, à l'exclusion du bulbe.

On tendra donc à fondre les différences anatomiques internes en une masse où l'on pourra séparer des fractions réunissant les particules de même taille ou de même comportement, à l'échelle de la cellule : ce qui se fait sur des cerveaux réduits à l'état d'homogénats.

Technique de l'homogénat.

L'homogénat de cerveau résulte de la transformation de cet organe en une masse unique et uniforme, homogène, qui fait disparaître toutes les différences visibles à l'œil nu, mais qui conserve la totalité de la matière.

On le réalise en écrasant le cerveau par le broyeur électrique Potter; pendant cette opération, le broyat est maintenu dans un bain de glace.

Avant le début du broyage, on ajoute au cerveau 10 % de son poids d'une solution de saccharose à 0,25 M dans l'eau distillée.

D'autres solvants pourraient être utilisés : ainsi le chlorure de potassium en solution à 1,15 g dans l'eau distillée. Nous avons alors employé ce solvant, à titre de vérification, car l'on aurait pu penser que les groupements OH du saccharose entre-

raient en relation chimique avec les ions boriques BO_3 --- ou BO_2 -, en constituant de grosses molécules, qui auraient faussé la signification des dosages. Or, il n'en est rien, les résultats que nous avons obtenus avec le solvant chlorure de potassium sont les mêmes que ceux obtenus avec le solvant saccharose.

L'homogénat ainsi réalisé se présente comme un liquide épais, de teinte rosée, très pâle.

Cette transformation en homogénat a pour but de permettre le dosage des éléments chimiques qui composent le cerveau dans son intégrité ou qui s'y sont introduits à la suite d'expérimentations.

Cela se fait à deux étapes successives :

1) Sur l'homogénat global, sans autre traitement. Les teneurs décelées portent alors sur la totalité du poids de l'organe ou, si l'on préfère, sur la composition moyenne de sa masse. C'est une autre manière de procéder à un dosage, qui vient en supplément de celui que nous avons effectué précédemment sur l'organe frais lui-même, prélevé en direct;

2) Sur l'homogénat, mais séparé progressivement en ses divers ensembles de masses cellulaires ou intra-cellulaires. Pour cela, on traite cet homogénat princeps par des ultra-centrifugations successives, qui trieront les éléments micro-histologiques, des éléments les plus gros aux plus fins. Les teneurs décelées par les dosages détermineront alors les divers échelons de l'organisation cellulaire auxquels se sera fixé ou aura transité le corps que l'on recherche, le bore dans notre cas particulier.

Centrifugation de l'homogénat.

La séparation par gradients de densité est une méthode puissante de centrifugations zonales qui, depuis la monographie de Svedberg et Pedersen en 1940, a été très approfondie (Cooper, 1966, Corbett, 1966, Charlwood, 1966). Le perfectionnement constant des appareils (Measuring ans Scientific Equipment Ltd 1968, 1969) a poussé très loin les limites de son domaine d'emploi : ils participent au matériel fondamental de laboratoire. Andersen en 1956, De Duve et ses collaborateurs en 1959 s'en sont servis pour l'isolement des particules cellulaires, Watson en 1964 pour la séparation des ribosomes et des polysomes, Anderson (1966) pour le fractionnement de cellules chez l'Homme, El-Aaser, Fitsimons et collaborateurs (1966) pour des fractionnements nucléaires de foie du Rat, Johnston, Mathias, Pensington et Ridge (1968) pour des fractionnements nucléaires de cellules mammaliennes, et d'autres encore, Spanner et Ansell (1970).

Sous l'impératif de raisons pratiques, j'ai été amenée à utiliser successivement deux centrifugeuses différentes.

Aux faibles vitesses de rotation (inférieures à 9.000 tours par minute), une centrifugeuse ordinaire, non seulement suffit, mais est encore à recommander, car les rotors à grandes vitesses sont un peu légers pour ne pas s'user aux basses vitesses.

Aux grandes vitesse de rotation (supérieures à 10.000 tours et s'élevant jusqu'à 45.000 tours par minute, sur les appareils les plus récents), on emploie l'ultra-centrifugeuse.

Le modèle, dont le fonctionnement m'a été confié au Centre de recherches sur les toxicités, est l'ultra-centrifugeuse M.S.E. superspeed (65) : son rotor est un rotor *swingout* (de capacité 3×5 ml). Un dispositif indicateur permet de suivre parfaitement la valeur de l'accélération réalisée.

L'ultra-centrifugation se fait sous vide et à basse température, réfrigérée à + 4° C. La régulation automatique de la température jusqu'à 0° C, même à la vitesse maximum de 45.000 tours par minute, s'obtient, à la fois par un système de réfrigération extrêmement efficace et par la mise sous vide de la chambre de centrifugation : tout cela est déclenché dans le cycle normal de la mise en route.

L'appareil est construit de telle façon que, lorsque s'est écoulé le temps de rotation préalablement fixé (ou 10 mn ou 1 heure ou tout autre), le vide se coupe de lui-même et, au bout de 5 minutes, l'appareil s'ouvre automatiquement.

Ultra-centrifugations successives : les sédiments.

Pour trier l'homogénat entre ses groupes de particules cellulaires, nous avons employé une méthode conforme à celle proposée par Gonnard et Rodriguez (1967).

A chacune des ultra-centrifugations successives, qui sont chaque fois de vitesse croissante, on isole le sédiment obtenu; on conserve le surnageant qui subsiste, pour le traiter ensuite par l'ultra-centrifugation suivante, à plus grande vitesse :

— 1re ultra-centrifugation à $1.000 \times g = 3.300$ tours/mn pendant 10 mn.

A partir de l'homogénat initial à 10 %, on obtient le sédiment 1 et le surnageant 1.

— 2e ultra-centrifugation à $10.000 \times g = 9.500$ tours/mn pendant 10 mn.

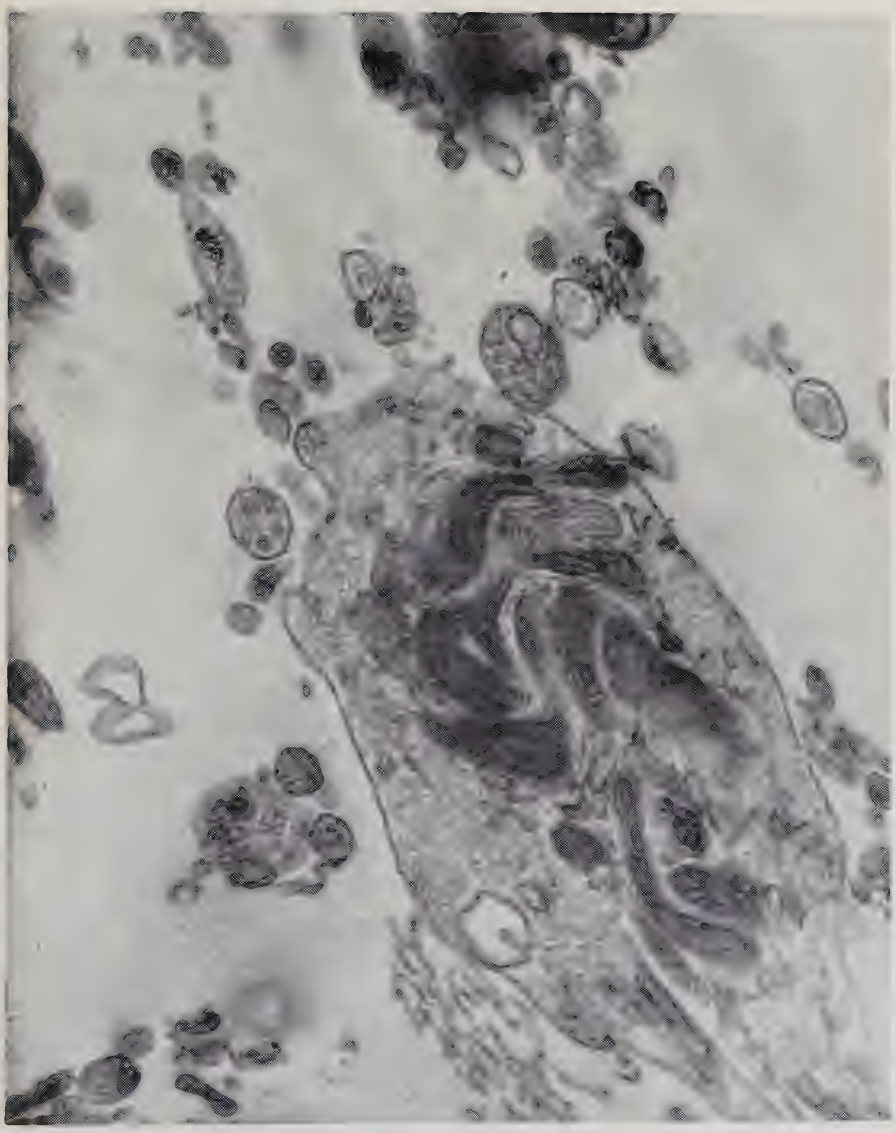


Fig. 3. — *Homogénat de cerveau de rat : sédiment 1.* — Photographie au microscope électronique, grossissement × 17 000.

Fractions nucléaires, cellules intactes, débris de membranes.

(Noter que le grossissement est la moitié de celui des *fig.* 4 et 5).

A partir du surnageant 1, on obtient le sédiment 2 et le surnageant 2.

— 3e ultra-centrifugation à 38.000 × g = 18.800 tours/mn pendant 60 mn.

A partir du surnageant 2, on obtient le sédiment 3 et le surnageant 3.

— 4e ultra-centrifugation à 100.000 × g = 30.000 tours/mn pendant 60 mn.

A partir du surnageant 3, on obtient le sédiment 4 et le surnageant 4.

Remarque complémentaire sur la nécessité du lavage du sédiment 1. Comme le sédiment 1 contient encore à son premier dépôt environ 10 % de mitochondries, on le remet en suspension avec 1 ml de saccharose 0,25 M et on centrifuge à nouveau, comme la première fois, à la vitesse de 1.000 × g = 9.500 tours/mn pendant 10 mn.

Composition des sédiments.

L'examen au microscope électronique a montré aux initiateurs de cette méthode (et aux auteurs qui ont suivi) la composition des divers sédiments, dérivant les uns des autres par éliminations successives, un peu comme dans les triages granulométriques.

Sédiment 1 : fraction nucléaire, cellules intactes, membranes;
Sédiment 2 : majeure partie des mitochondries (les plus grandes);
Sédiment 3 : petites mitochondries, lysozomes;
Sédiment 4 : ribosomes.

Vérification de la composition corpusculaire des sédiments.

Les sédiments que j'ai obtenus dans mes expérimentations étaient-ils conformes aux normes précédentes ? Je les ai soumis à identification dans le Service de microscopie électronique du Centre de recherches sur les toxicités, sous la direction du Dr M. Th. Pierragi. Il était en effet indispensable de vérifier si mes produits d'ultra-centrifugation n'avaient pas de particularité, par rapport à ceux indiqués par Gonnard et Rodriguez, par Mariotti (1970) dans notre centre.

La préparation de ces sédiments, pour être passés au microscope électronique, demande les étapes suivantes :

a) Fixer l'acide osmique à 2 % durant une heure;

b) Déshydrater dans l'alcool;

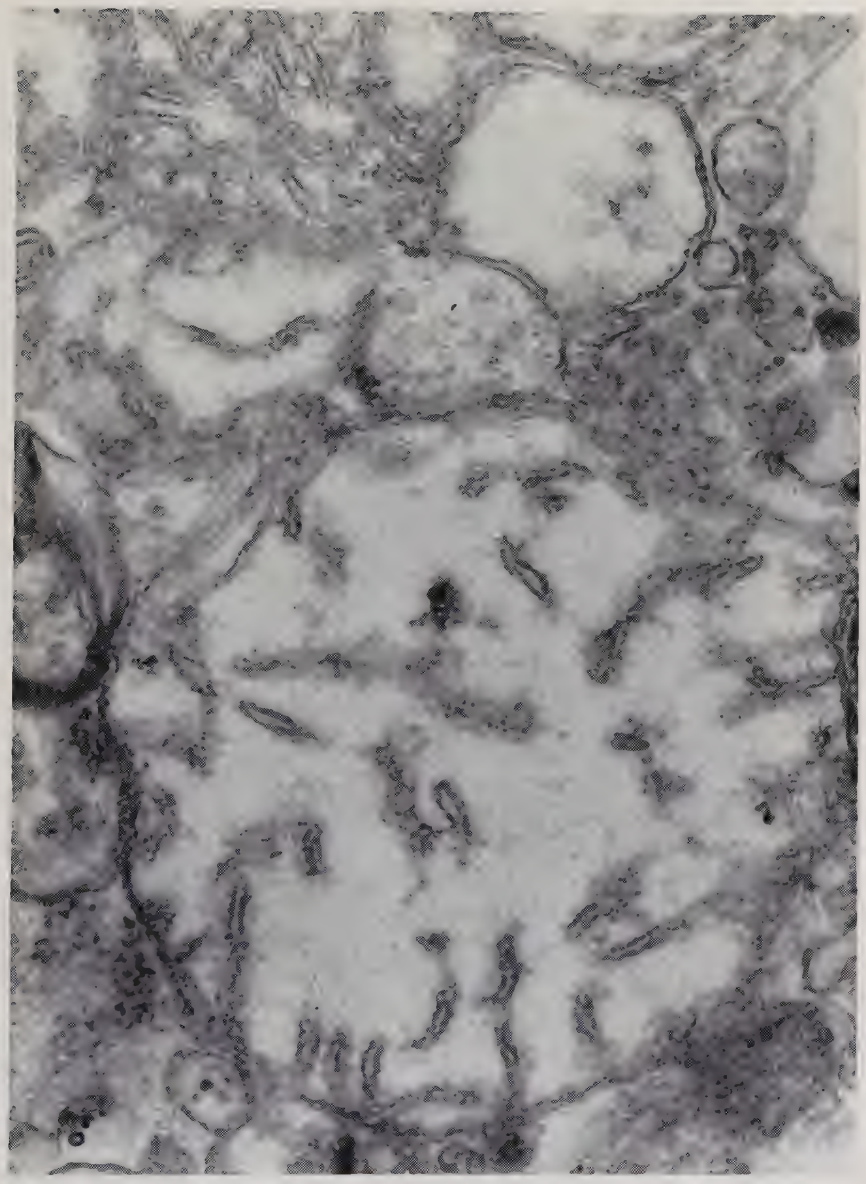


Fig. 4. — *Homogénat de cerveau de rat : sédiment 2.* — Photographie au microscope électronique, grossissement × 33 200.

Grandes mitochondries, avec crêtes mitochondriales. Remarquer la grande mitochondrie qui occupe, à elle seule, un peu plus que la moitié inférieure du cliché.

c) Inclure dans l'épon;
d) Faire les coupes;
e) Colorer les coupes à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb;
f) Examiner au microscope électronique, qui est, en l'espèce, un Hitachi N.U. 11 B.

Voici les compositions des diverses catégories, telles que je les ai obtenues :

Sédiment 1 (3.300 tours), microphot. au gross. × 17.000 : beaucoup de noyaux, débris de cytoplasme, membranes;
Sédiment 2 (9.500 tours), microphot. au gross. × 33.200 : grandes mitochondries, avec crêtes mitochondriales bien visibles;
Sédiment 3 (18.800 tours), microphot. au gross × 33.200 : fraction du reticulum, petites mitochondries, petites vésicules lysozomes et microsomes;
Sédiment 4 (30.000 tours), microphot. au gross. × 33.200 : ribosomes.

Cet examen a donc montré que, dans mes sédiments d'expérimentation, la composition corpusculaire est normale.

On trouvera ci-joint, à l'appui, quelques-unes des microphotographies obtenues ainsi sur mes matériaux (fig. 3, 4, 5).

Dosage du bore dans les sédiments.

Etant donnée la particularité de la matière, nous précisons quelques points pour le dosage :

a) Le sédiment à doser doit être remis en suspension par du saccharose;
b) On le place ensuite dans un creuset de silice;
c) On ajoute alors du sulfate de beryllium en solution, en proportion déterminée, comme étalon interne, suivant la technique de Pitet, Clavel et Caujolle;
d) On évapore à sec.

Le dosage se fait sur ce résidu sec, par spectrographie d'émission suivant la méthode habituelle.

Résultats des expérimentations.

Rappelons que nous avons toujours réalisé les homogénats de cerveau (et par conséquent les sédiments qui en ont dérivé) sur des rats qui avaient été injectés avec le tolylboronate en solution à 2 % dans le sérum physiologique, à la dose de 0,20 g par kg de poids de l'animal, et par voie intrapéritonéale.

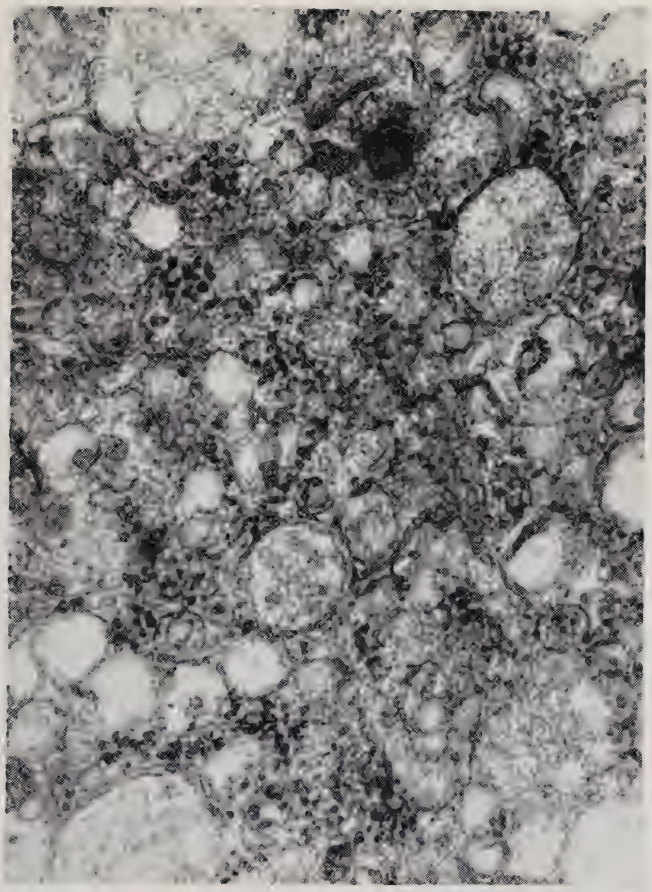


Fig. 5. — *Homogénat de cerveau de rat : sédiment 3.* — Photographie au microscope électronique, grossissement × 33 200.

Petites mitochondries, lysozomes.

Avec la finesse extrême des corpuscules, triés à ce stade par les ultracentrifugations successives, le sédiment est d'apparence beaucoup plus régulière et homogène que les sédiments précédents.

On y reconnaît les petites mitochondries, d'allure arrondie, à leur double membrane bien distinguable, — les lysozomes à leur disposition grenue.

Nous représentons en stéréogramme (fig. 6) les résultats obtenus, afin qu'on suive mieux l'évolution de la localisation cérébrale en bore dans les sédiments.

TENEUR DES SÉDIMENTS EN BORE

Résultats exprimés en μg de bore dans chaque sédiment.
Notation : S = sédiment; Surn. = surnageant; tr. = traces.

Acide orthotolylboronique (sel sodique) — 0,20 g/kg

Echéance	3 mn	5 mn	10 mn	15 mn	30 mn	1 h	2 h	4 h	8 h
S 1	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.			
S 2	0,62	0,62	0,82	0,69	0,48	0,60			
S 3	0,60	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.			
S 4	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.			
Surn. 4	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.			

Acide métatolylboronique (sel sodique) — 0,20 g/kg

Echéance	3 mn	5 mn	10 mn	15 mn	30 mn	1 h	2 h	4 h	8 h
S 1	tr.	0,71	tr.	tr.	0,94	tr.	0,75	tr.	tr.
S 2	tr.	2,3	0,56	0,56	0,63	0,72	0,94	0,30	0,27
S 3	0,69	tr.	tr.	tr.	0,95	tr.	0,88	0,30	tr.
S 4	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
Surn. 4	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.

Acide paratolylboronique (sel sodique) — 0,20 g/kg

Echéance	3 mn	5 mn	10 mn	15 mn	30 mn	1 h	2 h	4 h	8 h
S 1	tr.	0,21	tr.	tr.	tr.	tr.	0,40	tr.	0,14
S 2	0,45	0,65	0,55	0,74	0,68	0,52	0,60	0,20	0,20
S 3	tr.	tr.	0,30	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
S 4	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
Surn. 4	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.

VARIATIONS INDIVIDUELLES.

Les valeurs obtenues offrent quelques inégalités dans la croissance ou la décroissance des teneurs en rapport avec la progression des échéances de temps après l'injection I.P. Cela résulte évidemment de ce que, à chaque étape d'échéance, les sujets changent et que, par conséquent, on fait appel à de nouveaux rats dont l'organisme a pu se comporter de façon un peu inégale devant la substance injectée.

Les teneurs indiquées sont les teneurs individuelles, ou bien des moyennes lorsque, pour une même échéance, plusieurs sujets ont pu intervenir.

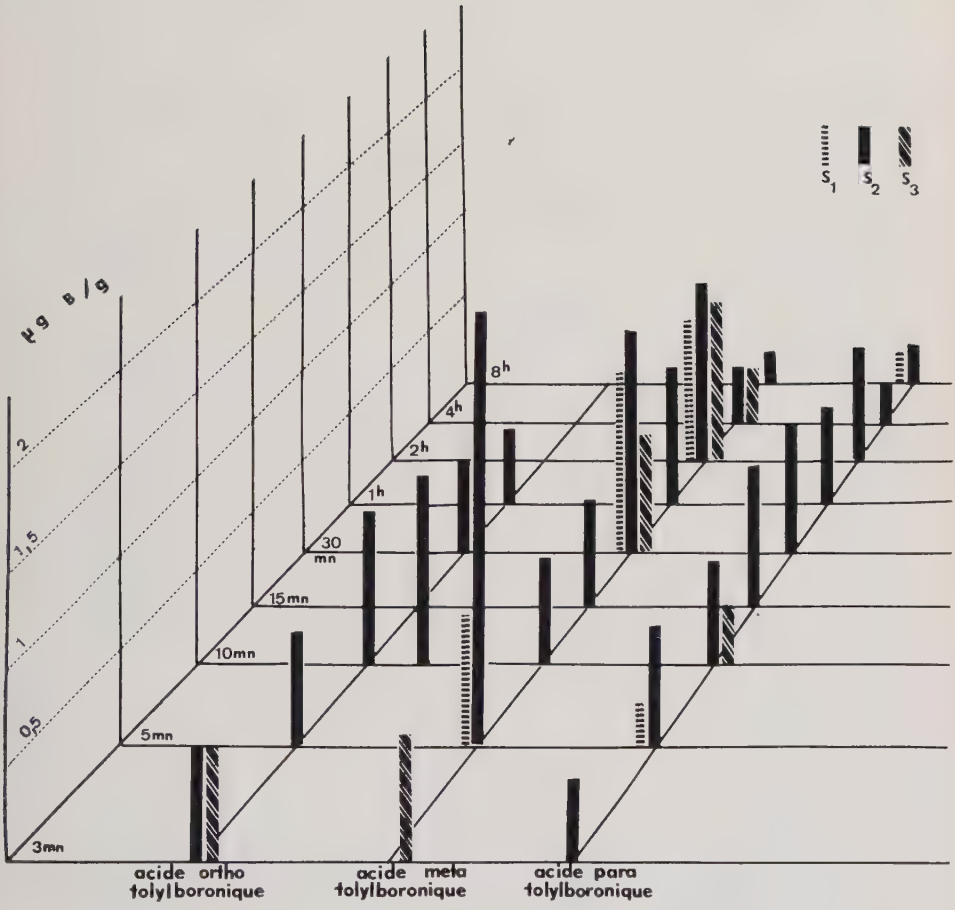


FIG. 6. — *Evolution comparative de la localisation cérébrale sub-cellulaire du bore dans les sédiments d'ultra-centrifugation s1, s2, s3.*

Représentation dans l'espace. En ordonnées, la teneur en µg B/g. En perspective, les échéances de temps après l'administration.

Nous croyons utile de rapporter toutes les déterminations accomplies, afin de souligner les limites des variations individuelles.

— Acide orthotolylboronique :
Sédiment 2. — Echéance 10 mn : de 0,70 à 0,92; éch. 30 mn : de 0,47 à 0,50; éch. 1 h : de 0,50 à 0,70.

— Acide métatolylboronique :
Sédiment 1. — Echéance 10 mn : de 0,66 à 0,76; éch. 30 mn : de 0,92 à 0,98; éch. 2 h : de 0,74 à 0,76.
Sédiment 2. — Echéance 5 mn : de 2,2 à 2,5; éch. 10 mn : de 0,48 à 0,64; éch. 15 mn : de 0,46 à 0,67; éch. 1 h : de 0,74 à 0,80; éch. 2 h : de 0,92 à 0,96; éch. 4 h : de 0,27 à 0,33.
Sédiment 3. — Echéance 3 mn : de 0,67 à 0,72; éch. 30 mn : de 0,92 à 0,98; éch. 2 h : de 0,86 à 0,90; éch. 4 h : de 0,27 à 0,33.

— Acide paratolylboronique :
Sédiment 1. — Echéance 5 mn : de traces à 0,43; éch. 8 h : de 0,12 à 0,20.
Sédiment 2. — Echéance 3 mn : de 0,40 à 0,50; éch. 5 mn : de 0,40 à 0,90; éch. 10 mn : de 0,30 à 0,80; éch. 15 mn : de 0,66 à 0,92; éch. 30 mn : de 0,64 à 0,72.
Sédiment 3. — Echéance 10 mn : de 0,20 à 0,40.

Il semble que les différences de teneurs en bore à une même échéance ont un peu plus d'amplitude avec le paratolylboronique qu'avec les autres isomères, entre les divers sujets expérimentés.

Quoi qu'il en soit, la marge de ces variations dans la localisation cérébrale sub-cellulaire reste dans la norme habituelle et encadre bien les moyennes qui traduisent chaque comportement d'échéance.

Forme de localisation intra-cellulaire.

En général, on envisage, pour une substance injectée, la possibilité de trois voies de distribution dans l'organisme (Locksley et Sweet, 1954).

1) Cette substance pourra se comporter comme constituant extra-cellulaire et se répartira uniformément dans le liquide interstitiel ou lacunaire, la lymphe et le plasma, c'est-à-dire dans un volume représentant 20 % du poids du corps;

2) Ou bien elle se distribuera dans l'eau de l'organisme extra et intra-cellulaire, en une concentration uniforme, c'est-à-dire dans un volume de dilution équivalent de 65 à 70 % du poids du corps;

3) Ou bien elle pénétrera dans l'intérieur des cellules.

Dans nos expérimentations avec les divers acides tolylboroniques, injectés sous l'état de leurs sels sodiques, le bore, après sa migration, se trouve localisé sur les grosses particules, surtout dans le sédiment 2 (grosses mitochondries), — et non dans les surnageants ultimes qui se rapprochent le plus de l'allure d'un milieu aqueux.

Il se comporte donc comme fixé ou retenu sur les éléments intra-cellulaires, plutôt que dilué dans l'eau qui les imprègne.

Influence de la nature chimique du composé boronique sur le cantonnement dans le cerveau.

On doit penser que la manière dont le bore est combiné influe beaucoup sur la manière dont il procède et sur les natures des parties où il se localise.

On a d'ailleurs écrit, avec toutes les preuves de l'évidence (F. Caujolle, 1951) : « La forme chimique dans laquelle le bore est engagé, ionisable ou non, dissimulée ou non, joue un rôle prépondérant dans son efficacité ».

Je n'en veux pour démonstration que le rapprochement que nous allons faire de nos résultats sur la localisation cérébrale à l'échelle sub-cellulaire avec ceux de même genre obtenus par Mariotti (1970) : celui-ci a, en effet, procédé par les mêmes méthodes que nous, mais avec un composé différent, le cyclohexylboronate de N. heptyle. Voici les teneurs en bore qu'il a décelées dans les produits de l'ultra-centrifugation des homogénats de cerveau des rats qu'il avait traités avec ce produit :

	µg de bore par g de résidu sec	% du bore contenu dans l'homogénat princeps
Homogénat princeps	1,8	100
Sédiment 1	traces	inférieur à 2 %
Sédiment 2	traces	inférieur à 2 %
Sédiment 3	traces	inférieur à 2 %
Sédiment 4	traces	inférieur à 2 %
Surnageant 4	1,58	supérieur à 90 %

Ces résultats sont presque à l'opposé des nôtres.

Avec le cyclohexylboronate de N. heptyle, le bore ne se trouve guère fixé dans les grosses particules cellulaires (sédiments 1 à 4 d'ultra-centrifugation), mais presque en totalité dans le surnageant 4 (particules plus fines que les ribosomes).

Avec les acides tolylboroniques, le bore se trouve au contraire localisé sur les grosses particules et n'existe déjà plus qu'à l'état de traces infimes dans le sédiment 4 (celui à ribosomes) et dans le surnageant 4.

TROISIÈME PARTIE

MÉTABOLISME DES ORGANOBORIQUES

SOMMAIRE DES CHAPITRES DE LA TROISIÈME PARTIE

Chapitre I :

Défixation du bore fixé au niveau du cerveau.

Chapitre II :

Evolution parallèle du bore sanguin.

Chapitre I

DÉFIXATION DU BORE FIXÉ AU NIVEAU DU CERVEAU

Nous avons précédemment déterminé comment la pénétration des divers tolylboronates sodiques peut accumuler, dans les hémisphères cérébraux, des quantités de bore, variables suivant les échéances.

Mais sous quelle forme ? Entre l'administration initiale par l'injection dans l'organisme et la phase finale du dosage ou de l'élimination, ces boronates subissent-ils, dans les tissus qu'ils pénètrent, quelques transformations chimiques ? Subissent-ils ou provoquent-ils des réactions ?

Travaux antérieurs.

Dans la bibliographie qui peut concerner ce sujet, glanons quelques données pour encadrer nos recherches.

Pfeiffer, Hallman et Gersh (1945) écrivent que le bore présent dans le cerveau n'est pas combiné avec des phospholipides ou du cholestérol, mais simplement combiné avec le glycérol ou quelque autre produit polyhydroxylé.

Messner et Trauther (1955) étudient le métabolisme azoté du cerveau, en opérant sur du tissu cérébral de cobaye, utilisé sous forme de hachis finement dispersé. Mise en incubation, une telle matière fabrique beaucoup moins d'ammoniaque, quand il y a du bore, qu'en son absence. Dans les mêmes conditions se trouve inhibée la synthèse de la glutamine par le tissu cérébral, synthèse qu'aborda pour la première fois avec précision Krebs en 1935, puis Weil-Malherbe en 1936. L'effet toxique de l'acide borique sur les tissus cérébraux pourrait être dû alors à la diminution de la fixation d'oxygène par ces tissus, peut-être en rapport avec la diminution de pouvoir de formation d'ammoniaque et d'acide glutamique.

Ling et ses collaborateurs, en 1957, ont des conclusions comparables.

Chakova (1961) signale une belle observation naturelle, celle des moutons du Kasakstan, province afghane chimiquement riche

en bore, et où la nourriture en apporte spontanément aux animaux. Elle a déterminé comment ce bore se comporte dans le cerveau et le foie. Après un exposé des méthodes employées, elle conclut, pour ce qui concerne le cerveau, aux proportions suivantes : pas de bore dans la fraction protéique, 95 % du bore total dans la fraction hydro-carbonée, le reste, très faible, dans la fraction lipidique. L'auteur y voit une indication que le bore participe au métabolisme des hydrates de carbone de l'organisme animal.

Gast et Murray (1962) attirent l'attention sur ce que, depuis les travaux de Pfeiffer et Jenny ayant établi l'accumulation d'acide borique dans le cerveau à la suite d'injections réitérées, aucune tentative n'a été faite pour déterminer la forme chimique sous laquelle le bore est fixé dans le cerveau.

Le partage des solvants, la chromatographie et l'électrophorèse sur papier indiquent que la majeure part de l'acide borique ne se présente pas sous une forme libre, si la séparation est faite 48 heures après la dernière administration. En outre, il ne se présente pas, non plus, sous la forme de simple ester de l'acide borique, pour lequel ont été élaborés des techniques de séparation par chromatographie.

Une fraction lipidique, isolée du cerveau de souris ou de rat après traitement par doses réitérées d'acide borique, contient 90 %, ou plus, de bore sous une forme liée stable, qui n'a effectué que lentement l'essai du spot avec la curcumine.

On a opéré aussi sur du cerveau de bœuf, homogénéisé avec un excès d'acide borique, et laissé au repos pendant 6 heures avant le fractionnement. Par comparaison avec un cerveau sans addition de bore, une incorporation *in vitro* s'élabore, jusqu'à 4 % de la fraction ainsi isolée. Ce résultat ressemble, quoique à un degré moindre, à celui qu'avaient fourni les fractions cérébrales de souris et de rat.

Les spectres I.R. indiquent la présence du bore; des analyses concernant le bore, le phosphore, l'azote et les hydrates de carbone prouvaient la pureté relative des échantillons.

Les références que nous venons de rappeler se rapportent à ce que l'on peut nommer le *bore endémique* ou le *bore persistant*, celui qui est vraiment incorporé à l'organisme normal par la constance d'une nourriture borée, ou bien encore celui qui s'y accumule à la suite d'injections réitérées. Gast et Murray ont employé comme nous la chromatographie et les essais à la curcumine.

Si nous estimons maintenant nos propres recherches, un mot s'impose pour la matière qu'elles examinent : celui de *bore passager* ou de *bore éliminable*, le bore qui obéit à la réceptivité par le cerveau, mais qui ne fait qu'y transiter, quand il ne résulte que d'une administration unique.

Ces oppositions de termes se suffisent pour marquer les rapports et les différences entre les deux types de travaux.

Technique de l'homogénat soumis a la chromatographie.

La recherche doit se faire sur le cerveau, réduit à l'état d'homogénat, mais maintenu dans son ensemble, sans le dissocier en les diverses fractions correspondant à ses structures sub-cellulaires.

Ayant à faire à des discriminations biochimiques délicates, nous aurons recours à la chromatographie, telle qu'on la met de nos jours à contribution (Savidan, 1970).

La prise d'essai consiste chaque fois en 10 cerveaux de rats Wistar, adultes (de 200 à 250 g de poids de corps), que j'ai traités à jeun par voie intra-péritonéale, toujours à la dose de 0,20g/kg, et qui sont sacrifiés à chaque échéance conventionnelle de temps après le moment de l'administration initiale. Cette quantité de 10 cerveaux pour chaque essai est nécessaire, si l'on veut obtenir une matière d'expérimentation significative : près de 200 sujets ont été exigés pour ce seul essai.

On réalise l'homogénat au broyeur Potter, dans une solution de chlorure de potassium à 9 %.

L'extraction de la partie utile de l'homogénat est obtenue par l'épuisement, à l'aide de trois centrifugations successives, avec un mélange à parties égales eau-méthanol, ce qui a pour résultat d'entraîner les boronates.

La purification du produit ainsi recueilli commence par une filtration sur une pré-colonne d'alumine acide (marque Merck), de 2 cm environ de hauteur.

L'emploi de l'alumine permet à la fois de purifier les extraits et de mettre en évidence la différence de polarité de l'acide borique et des organoboriques étudiés. Faut-il choisir entre l'alumine acide et l'alumine alcaline ? M^me^ Bonnell-Pène (1969) a répondu par le choix de l'alumine acide, car cette dernière retient moins fortement l'acide borique.

On concentre ensuite l'extrait précédent au rotavapor sous pression réduite, à 21°, et ce jusqu'à obtention d'un volume d'environ 5 ml.

Deuxième étape de passage sur colonne d'alumine acide, imprégnée d'eau permutée, cette fois-ci haute de 15 cm. L'extrait passé, puis on élue la colonne par 70 ml d'eau permutée.

La récupération du produit s'effectue très simplement, par évaporation à sec au rotavapor.

La préparation immédiate pour la chromatographie se borne alors à tracer le résidu sec précédent par 1 à 2 ml du mélange eau-méthanol.

Le moment de la chromatographie sur couche mince est venu. On doit réaliser la chromatographie mono-dimensionnelle, sur gel de silice G (Merck), d'épaisseur 0,25 mm, activé 30 minutes à 110°.

La préparation des solutions étalons prévoit pour notre cas trois solutions différentes :

a) Solution d'acide borique dans l'eau, à 4 mM/10 ml ou 25mg/10ml;

b) Solution de métatolylboronate de sodium dans le méthanol, à 0,5 g %;

c) Solution de métacarboxyphénylboronate de sodium dans le méthanol, à 2 mM/10ml ou 3,32 mg/10ml.

La préparation de l'éluant (utilisé dans une cuve) est la suivante :

Benzène	70 ml	
Acétone	26 ml	
Propanol	2 ml	100 ml
Butanol	1 ml	
Acide acétique	1 ml	

Ensuite, pratique classique de la chromatographie, après dépôt à la base de la plaque, des spots des substances à examiner. Quand tous les spots ont migré jusqu'à une hauteur de 13 cm environ, on retire la plaque de la cuve.

On révèle alors les différents spots par le révélateur approprié. Mlle Bonnefil-Péne a approfondi ces questions, à propos de la recherche des arylboroniques dans l'urine du Rat. Le révélateur qui a été utilisé est celui établi par Trumaut (1965) :

Acide oxalique en solution aqueuse à 50 g %	9 ml	
Curcumine à 8 %	90 ml	100 ml
Acide chlorydrique concentré à 50 %	1 ml	

Ce révélateur fait apparaître des taches roses sur un fond jaune, avec netteté et spécificité.

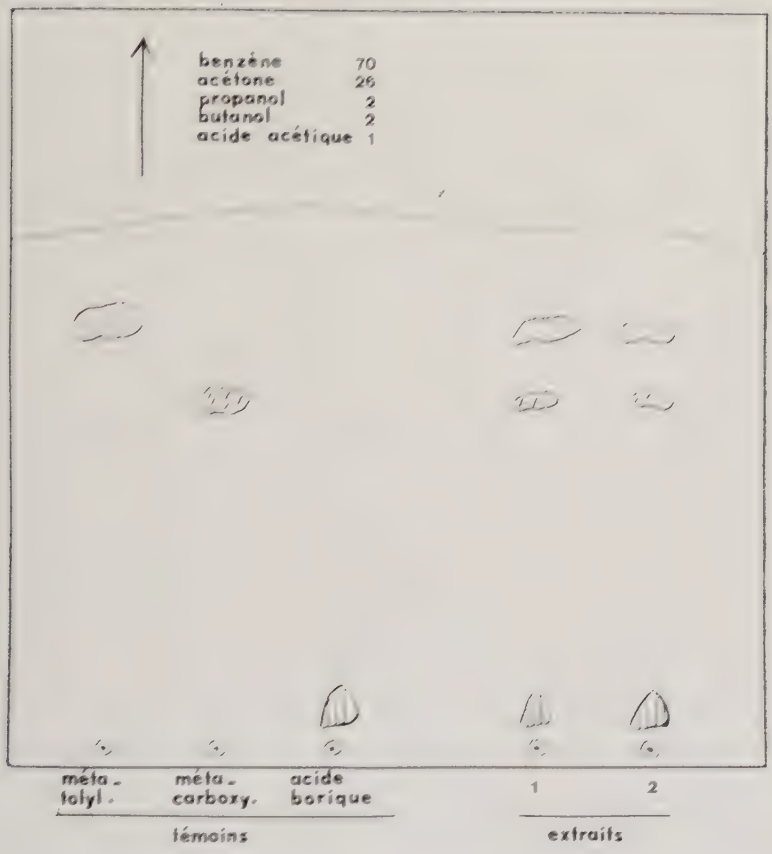


Fig. 7. — Chromatographie monodimensionnelle de référence : de solutions témoins de metatolylboronate de sodium, de metacarboxyphénylboronate, d'acide borique, — et de deux extraits (1 et 2) d'homogénats de cerveau.

Sur gel de silice G. Merck.

Les tolylboronates sont en solution à 2 moles % ml dans le méthanol. L'acide borique est en solution à 2 moles % ml dans l'eau.

Dépôts : 10 µg. Les points inférieurs marquent les positions initiales des spots. Schéma réduit de moitié.

Pour l'étalonnage initial, comme terme de comparaison, je prépare une plaque de référence, sur laquelle je dépose, au bas, une série de spots de 10 μl : de gauche à droite, un premier de la solution de metatolylboronate de sodium, un deuxième de la solution de metacarboxyphénylboronate de sodium, un troisième de la solution d'acide borique, un quatrième de l'extrait étudié (échantillon n° 1), un cinquième du même extrait (échantillon n° 2, pour confirmer l'expérimentation) (fig. 7).

A partir des spots initialement placés à la base, on obtient ainsi 5 montées parallèles, qui s'arrêtent, suivant la substance, à des hauteurs différentes dans la zone d'ascension du solvant.

Des diversités dans le processus opératoire sont évidemment possibles, quand on veut traiter le cerveau en homogénats pour procéder sur ceux-ci à la chromatographie, et ce surtout en fonction de la nature du corps avec lequel on expérimente. Par exemple, en vue de la recherche de l'enzyme Gaba, à une date toute récente, G. Pepeu, A. Bartolini et R. Bartolini (1970) ont utilisé une méthode calquée sur celle de Meynert et qui offre quelques différences vis-à-vis de la manière dont nous avons opéré : emploi d'éthanol et de chloroforme, alors que nous avons utilisé le méthanol; usage de l'ultra-centrifugeuse en une fois pour la préparation à la chromatographie, tandis que nous, nous nous sommes servi, dans ce but, de la centrifugeuse habituelle, mais en répétant trois fois l'opération, etc. Nous n'avions pas en effet, dans notre cas particulier, à fractionner l'homogénat en sédiments et surnageants successifs, ce qui aurait alors impliqué les séparations par des différences de vitesse croissante de rotation.

Résultats des expérimentations et des chromatographies correspondantes.

Metatolylboronate de sodium, à 2 % dans du serum physiologique pH = 9,5 par voie I.P. à la dose de 0,20 g/kg.

Les chromatographies (fig. 7 et fig. 8) ont permis de suivre une certaine évolution des teneurs des trois substances : metatolylboronate, metacarboxyphénylboronate, acide borique.

1) Echéance de 3 mn. Présence rapide du metatolylboronate; mais aussi présence un peu plus tardive de metacarboxy. et d'acide borique;

2) Echéance de 5 mn. Même comportement;

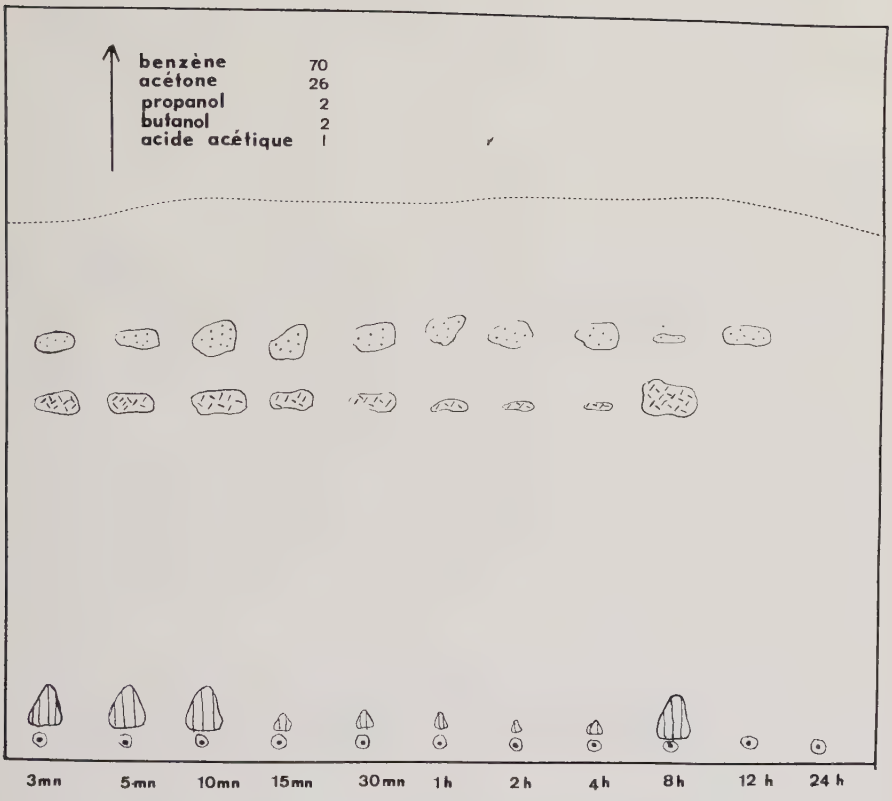


Fig. 8. — *Récapitulation synoptique des diverses chromatographies monodimensionnelles, obtenues successivement avec les homogénats de cerveau, suivant les diverses échéances après l'injection de metatolylboronate de sodium.*

Les points inférieurs marquent les positions initiales des spots. Schéma réduit de moitié.

3) Echéance de 15 mn. Même comportement pour le metatolylboronate; mais le metacarboxy. est encore plus tardif; l'acide borique n'existe qu'à l'état de traces;

4) Echéance de 30 mn. Toujours metatolylboronate dominant; le metacarboxy. apparaît un peu plus vite que dans l'homogénat de l'échéance de 15 mn; acide borique en traces;

5) Echéance de 1 h. Metatolylboronate constant; le metacarboxy. est en petite quantité; l'acide borique ne se manifeste que par de faibles traces;

6) Echéance de 2 h. Metatolylboronate de même importance; le metacarboxy. ne se traduit que faiblement et très tardivement; l'acide borique est infime;

7) Echéance de 4 h. Même comportement;

8) Echéance de 8 h. Très peu de metatolylboronate; par contre, le metacarboxy. se montre tout de suite et en grande quantité; de même pour l'acide borique, en apparition importante;

9) Echéance de 12 h. Présence de metatolylboronate; pas de metacarboxy; pas d'acide borique;

10) Echéance de 24 h. Pas de migration.

Nous résumons, sur une même vue d'ensemble (fig. 8), les chromatographies obtenues séparément pour chacune des dix échéances retenues : on embrasse ainsi l'évolution de la substance injectée.

Conclusions.

Le metatolylboronate de sodium parvient très vite dans le cerveau et y maintient sa présence en grande partie sans transformation chimique, jusqu'après l'administration (bien entendu, pour la dose indiquée).

Mais ce metatolylboronate ne provient pas toujours d'une même fraction initiale qui serait venue en une seule étape initiale. Car une partie de sa substance se transforme en métabolites, qui sont de l'acide metacarboxyphénylboronique et de l'acide borique.

Il semble que dans cette formation de métabolites, on puisse distinguer deux ou plusieurs phases : :

1) Dès le début, du metacarboxy. et de l'acide borique sont libérés : la réaction métabolique est donc immédiate dans l'organisme. Mais ces deux composés diminuent rapidement vers le premier quart d'heure, s'éliminant donc, pour ne plus se mani-

fester qu'à doses infimes ou même à l'état de traces dans les heures qui suivent;

2) Vers la huitième heure, nouvelle recrudescence de metacarboxy., en grande quantité, de même que pour l'acide borique. Par contre, le taux de metatolylboronate a baissé et il est évident que c'est à son détriment que les métabolites ont proliféré. Il y a donc une deuxième phase tardive de renouveau métabolique.

Mais cette phase n'est qu'une sorte d'explosion finale, hâtant l'élimination.

A l'échéance de 12 heures, on ne trouve plus de trace de ces métabolites; il ne reste qu'un peu de metatolylboronate, qui finira par s'éliminer vers la 18e ou la 20e heure.

En raison de cette propension à l'altération en métabolites, on peut penser que la présence de metatolylboronate, dans le cerveau, jusqu'au moment final de disparition totale, traduit, non pas la persistance d'une partie du metatolylboronate ayant imprégné le cerveau au début, mais plutôt la continuité plus ou moins régulière de son arrivée.

L'apport du metatolylboronate dans le cerveau jusqu'à l'instant sublime de son élimination suit, compense et remplace évidemment la dégradation en metacarboxy. et en acide borique. Il semble surtout déceler la constante réceptivité de la matière cérébrale pour lui, tant que l'ensemble de l'organisme n'a pas réussi à l'éliminer définitivement.

Conditions générales dans le cas d'administration unique :

Il n'est pas inutile de remarquer que les conclusions précédentes ne valent évidemment que dans les conditions propres à notre expérimentation.

1) Nous avons procédé toujours à une *administration unique*, — et non à des injections successives de doses réitérées;

2) On a utilisé ces formes très mobiles que sont les sels de sodium des acides tolylboroniques, surtout le meta;

3) Il en est résulté une *pénétration passagère* de ces organoboriques dans l'organisme en général et dans le cerveau en particulier, — et non une incorporation persistante. On pourrait donc envisager deux phases successives : une pénétration primaire et une pénétration secondaire;

4) Cette propagation à partir du torrent circulatoire, et spécialement vers le cerveau, se maintient, tant qu'il subsiste du tolylboronique disponible;

5) L'évolution définitive, après altération en quelques métabolites ou sans eux, aboutit à l'élimination. Il ne semble pas qu'on puisse constater une part d'accumulation.

Ces conditions sont favorables à envisager, pour cette forme de bore, les possibilités d'utilisation passagères par injection unique, — en restant, bien entendu, dans les limites de toxicité.

Chapitre II

ÉVOLUTION PARALLÈLE DU BORE SANGUIN

A partir des localisations cérébrales des tolylboronates, il nous a paru intéressant de remonter dans le compartiment organique antérieur, par lequel ces sels ont pu parvenir, c'est-à-dire le torrent circulatoire, où ils avaient été introduits à la suite de l'injection expérimentale.

Aussi, en même temps que les cerveaux précédemment étudiés, avions-nous prélevé le sang de chacun des individus. Cela fait que les résultats qui vont être donnés pour le sang total pourront être efficacement comparés à ceux obtenus pour les cerveaux, puisqu'il s'agit des mêmes sujets.

Nous avions donc à appliquer à ce sang les mêmes méthodes de chromatographie.

Technique.

Le sang est prélevé par ponction intra-cardiaque (selon le mode général indiqué par exemple dans le manuel de Lépine, 1964). Il va être traité, dans l'ordre, par les opérations suivantes, qui sont celles m'ayant donné le plus d'efficacité.

La prise d'essai consiste en 6 ml, prélevés sur l'ensemble des sangs des sujets de chaque cas (il s'agit, nous l'avons dit pour le cerveau, de rats de 200 à 250 g chacun, ayant reçu à jeun, par voie I.P., l'acide metatolylboronique à la dose de 0,20 g/kg).

Le sang est recueilli dans un petit tube à essai, contenant une goutte d'anticlot, anticoagulant fréquemment employé.

L'isolement du plasma est réalisé par centrifugation à 4.000 tours/mn pendant 10 mn. Ce plasma est recueilli et additionné d'un volume égal du mélange eau-méthanol.

Remarque : dans la mise au point de cette technique, j'avais commencé par ajouter le mélange d'eau-méthanol, directement avant la centrifugation; j'ai constaté que la séparation du plasma et du serum était alors plus difficile à obtenir. Cela m'a amenée à essayer la centrifugation avant l'addition du

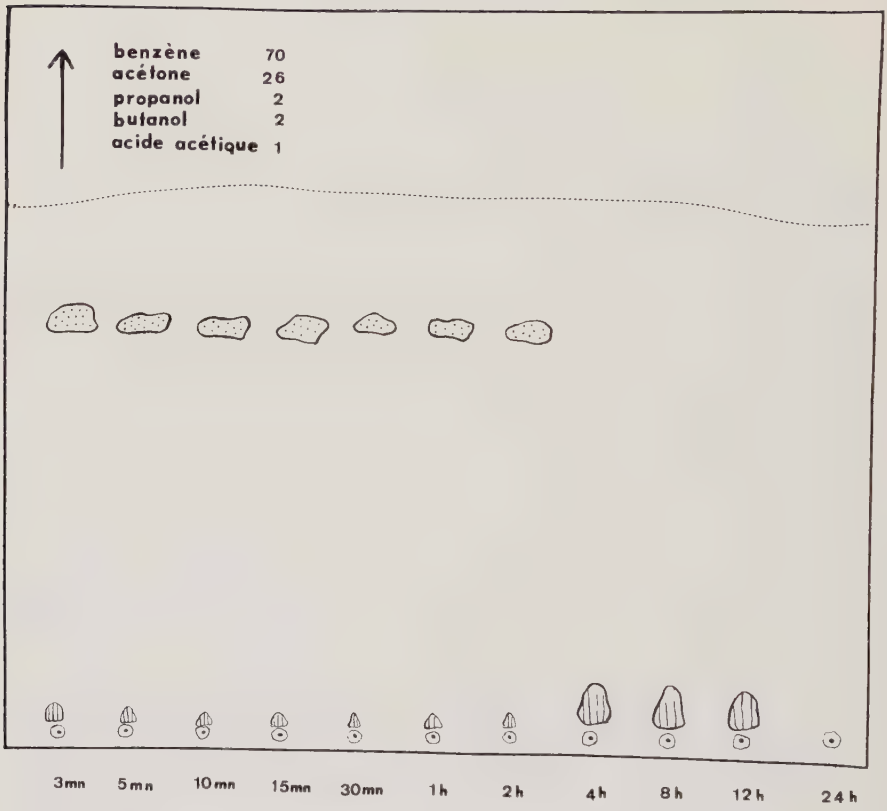


Fig. 9. — *Récapitulation synoptique des diverses chromatographies monodimensionnelles, obtenues successivement avec le sang, suivant les diverses échéances après l'injection de metatolyboronate de sodium.*

Les points inférieurs marquent les positions initiales des spots. Schéma réduit de moitié.

mélange d'eau-méthanol : la séparation s'effectue beaucoup plus facilement.

On concentre ensuite à un volume de 5 ml.

La purification se montre plus simple à réaliser que l'homogénat de cerveau, car le produit est plus limpide, ce qui m'a permis de supprimer le passage par la première pré-colonne de 2 cm de hauteur. J'ai commodément réalisé la filtration par la colonne d'alumine acide de 15 cm de hauteur, et par elle seule. L'extrait passe et on élue par 70 ml d'eau permutée.

La récupération du produit se fait par évaporation à sec au rotavapor.

La mise en préparation pour la chromatographie se ramène alors à dissoudre l'extrait sec précédent par 1 ou 2 ml d'eau-méthanol.

Et, à partir de ce moment, nous opérons la chromatographie sur plaque, comme avec le produit de l'homogénat de cerveau : mêmes solutions-étalons, même éluant.

Résultats des expérimentations et des chromatographies correspondantes.

Toujours, emploi du metatolylboronate de sodium à 2 % dans du serum physiologique, pH = 9,5, par voie I.P., à la dose de 0,20 g/kg.

Les chromatographies (fig. 9) ont permis de voir dans le sang la présence de metatolylboronate et celle d'acide borique, mais jamais celle de metacarboxyboronate.

D'une manière générale, les traces dans la chromatographie du sang sont moins fortes et moins individualisées que celles dans la chromatographie du cerveau.

1) Echéance de 3 mn. Présence nette et rapide de metatolylboronique; traces d'acide borique;

2) Echéances de 5 mn, de 10 mn, de 15 mn, de 30 mn, de 1 h et de 2 h. Même comportement : présence constante de metatolylboronate, avec traces d'acide borique;

3) Echéances de 4 h, de 8 h, de 12 h. Absence de metatolylboronate; par contre, présence, seule, d'acide borique, en traces plus accusées qu'auparavant.

Comme nous l'avons fait pour les chromatographies du cerveau, nous rassemblons dans une même vue d'ensemble (fig. 9) les chromatographies obtenues séparément pour chacune des échéances.

Discussion.

Le fait de n'avoir pu déceler le metacarboxyphénylboronate dans le sang nous laisse penser que ce métabolite ne trouve pas dans ce milieu les conditions nécessaires pour s'y produire, alors que dans le cerveau, il se rencontre en quantité importante. On n'aurait donc pas tort de supposer que la matière cérébrale possède un des facteurs qui favorisent efficacement son élaboration, c'est-à-dire une étape déterminée dans les transformations métaboliques.

Le seul metabolite qui ait pu être identifié dans le sang des sujets traités par le metatolylboronate est l'acide borique. A lui seul, il y représente le produit de métabolisme de tout le metatolylboronate, dont il marque la forme ultime de transformation. Une chose nous confirme dans cette vue : après le moment où le metatolylboronate disparaît dans le sang, on trouve encore — et pendant un certain temps — de l'acide borique seul et en plus forte proportion, qui témoigne ainsi de l'altération des dernières parcelles de metatolylboronate dont il dérive, comme un déchet-témoin attardé.

Par conséquent, une dose unique de metatolylboronate ne produit nullement une accumulation de bore dans le sang, où il se métabolise avec libération d'acide borique. Ce dernier, faible aux échéances antérieures à 4 heures, augmente quelque peu pour se stabiliser aux échéances ultérieures, ce qui pourrait être interprété comme une ébauche d'accumulation toute momentanée; mais il ne tarde pas à être éliminé.

QUATRIÈME PARTIE

RECHERCHES SUR LA LOCALISATION DU BORE DANS LE CERVEAU PATHOLOGIQUE (TUMEUR CÉRÉBRALE)

SOMMAIRE DES CHAPITRES DE LA QUATRIÈME PARTIE

Chapitre I :

Bore et tumeur cérébrale.

Chapitre II :

Le matériel de recherche : tumeurs cérébrales expérimentales du Rat.

Chapitre III :

Localisation du bore dans les tumeurs expérimentales du Rat.

Chapitre 1

BORE ET TUMEUR CÉRÉBRALE

Aspects préliminaires.

Partir du cerveau normal pour aborder le cerveau cancéreux est une étape logique.

L'étude synthétique des méthodes de culture des tissus cancéreux *in vitro* et de leurs résultats permit à Edward Stern (1936) de conclure que la cellule cancéreuse a des points communs avec la cellule normale; qu'elle peut être cultivée indéfiniment comme celle-ci, qu'elle croît avec un taux plus élevé, mais qu'elle meurt plus vite, parce que plus altérable et fragile. Cela a été confirmé par les recherches comparatives plus récentes *in vitro* et *in vivo*, telles celles de Babusikova (1969), qui a cultivé *in vitro* 181 types de gliomes.

Notions familières à qui s'occupe de lutte contre le cancer et qui, du comportement des tissus normaux, tire des indices pour déceler les points sensibles des pathologiques.

Nous n'avons pas à rappeler ici les caractères des cancers.

Pour leur morphologie d'ensemble et leur histochimie, on se rapportera aux traités généraux, par exemple en ce qui concerne les tumeurs cérébrales à celui de Bailey (1948), — et aux innombrables travaux spécialisés, dont nous citons seulement l'un des derniers en date, celui de Stavrou (1970).

Pour leur structure histologique, la photographie électronique met à notre disposition les aspects typiques des tumeurs, en coupe. Maints travaux les figurent, parmi lesquels nous renverrons, pour des carcinomes mammaires, à Schultz (1957), — pour des sarcomes intra-crâniens et d'autres genres, à Dalton et Felix (1956), Oberling et Bernhard (1961), Bernhard (1961), Mercer (1961, 1962), Wechsler (1963).

Le point particulier de l'ultrastructure capillaire, dans le cas des tumeurs cérébrales malignes chez l'homme, a été abordé par Long (1970), en rapport avec la barrière hémato-encéphalique. Pour l'infrastructure de gliomes humains, retenons les études de Ferreli, Coraddu et Delogu (1970).

Les classifications découlent des structures (Roussy, Lhermitte et Cornil, 1924, Penfield, 1931).

Les tumeurs cérébrales les plus fréquentes, dans la proportion de 40 %, appartiennent à la catégorie des gliomes. Elles se développent en n'importe quel point du parenchyme aux dépens du tissu névroglique. D'autant plus malignes que de type cellulaire moins différencié (Péguignot, 1968).

Notre rôle, en l'occurence, sera d'envisager la pénétration du bore des tolylboronates dans la tumeur cérébrale et de penser à une éventualité pour la thérapeutique.

Cette pénétration doit être considérée, certes en elle-même pour les résultats qu'elle obtiendra dans les conditions habituelles de l'espèce. Mais on ne doit pas perdre de vue les conditions temporaires ou particulières qui peuvent entraîner des variations, par suite de modifications de la perméabilité méningée, en d'autres termes, de la barrière hémato-encéphalique.

Dès l'abord, certaines observations le suggèrent. Arrêtons-nous sur le fait que les signes de la tumeur cérébrale sont, parfois, révélés seulement pour la première fois et, toujours, aggravés par l'état de grossesse; de nombreux médecins l'ont signalé chez la femme (Benassy, 1946; Divry et Bobon, 1949; Pigeaud, Dechaume, Dumont et Gabriel, 1951; Bittencourt, 1952; Kloss, 1958; Lucchini, 1962; Meierova, 1966, Ghosn, Mohasseb et Bedrossian, 1969).

Or, pour ce même état de gravidité, chez la ratte, nous avons découvert qu'il affectait, en l'accentuant, le degré de perméabilité méningée (vers le liquide céphalo-rachidien). Entre ces deux faits survenant avec le même état physiologique, une relation doit probablement exister : on peut se demander si la gestation, qui réagit sur la tumeur cérébrale en la faisant mieux se manifester, ne permettrait pas à des substances capables de se fixer sur les tumeurs, non seulement un meilleur passage, mais aussi une plus efficace intervention.

Autre rapprochement, peut-être prometteur. D'une part, chez les sujets pathologiques à tumeur cérébrale, une équipe de l'Institut de recherches de Tashkent (Dimant, Israilyan, Loktionov et Sataev, 1968) a fait voir l'influence des troubles hormonaux sur certains effets dans l'évolution des tumeurs. D'autre part, le cas particulier que nous avons montré, chez le sujet sain, de perméabilité accrue de la barrière durant la gestation des rattes se déclenche à cette période où l'on sait précisément que des modifications hormonales sont très effectives. N'y aurait-il pas là quelque point commun ?

Principe de la méthode de traitement des tumeurs cérébrales de l'homme par le bore radio-actif.

Le bore 10, qui se trouve en proportion de 18,8 % dans le bore naturel (P.A. = 10,220 à 10,925), soumis aux neutrons thermiques, capture l'un de ceux-ci et fait alors transition à un radiobore 11, lequel se désintègre immédiatement en un atome de lithium et une particule α.

Le schéma de cette transformation, avec valeurs en méga-électrons-volts (MeV = 10^6 eV), est le suivant :

$B^{10} + n \rightarrow [B^{11}] \rightarrow Li^7$ (0,87 MeV) + particule α (1,52 MeV).

Cette réaction se fait avec libération d'une énergie énorme de 2,4 millions d'électrons-volts : en physique nucléaire, un électron-volt (eV) est l'unité d'énergie qui correspond à l'énergie acquise par un électron accéléré sous une tension de 1 volt (champ de 1 volt par centimètre).

L'émission des particules ainsi dégagées présente deux propriétés de première importance.

D'une part, ce sont des particules lourdes, qui sont libérées à grande énergie et qui paraissent être d'une efficacité thérapeutique 10 à 20 fois plus puissante que l'énergie équivalente des rayons X.

D'autre part, les dimensions relativement grandes de ces particules libérées font qu'elles ne pénètrent que de peu, de 10 à 15 μ dans les tissus en général, de 8 μ dans le tissu cérébral en particulier. Ainsi, leur effet léthal ne dépasse pas une région ayant deux fois le diamètre d'un globule rouge. On n'a donc pas à redouter, comme conséquence fâcheuse, une répercussion lointaine et imprévue.

Recherches expérimentales a but thérapeutique.

Les conditions que nous venons de rappeler se prêtaient judicieusement à ce qu'on envisage l'emploi du bore radioactif pour des traitements anti-cancéreux.

C'est Kruger (1940) qui, pour la première fois, émit cette conception, et d'une manière *à priori*, presque théorique : « A partir de nos connaissances de physique nucléaire seules, il est clair que la réaction bore-neutrons lents devrait déterminer une destruction cellulaire plus efficace que d'autres types d'irradiation, si leur désintégration peut être déterminée dans l'environnement des cellules du néoplasme ».

Parmi les premières expérimentations, forcément un peu indécises, citons celles de Zall, de Cooper et de Dunning, — et,

sur des végétaux, celles de Conger et Gilles, qui évaluèrent quantitativement les effets biologiques de cette réaction neutrons-bore.

Au point de vue de conséquences thérapeutiques, ce sont Soloway et son école, Locksley, Sweet et autres, qui s'en sont très intensément occupés. Sweet et ses collaborateurs, Javid, Brownell en 1952, pensaient déjà que la tumeur la plus indiquée pour une telle médication était probablement la tumeur cérébrale maligne grave. Sweet, entre autres, proposa explicitement la capture de neutrons comme base de traitement de cette tumeur cérébrale.

Sweet et Javid démontrèrent qu'après une injection intraveineuse de borax, on constate, entre la concentration du bore dans la tumeur et celle dans le cerveau normal, un rapport de l'ordre de 3 ou 4 à 1, rapport qui semble efficace ou, tout au moins, sur la voie désirée pour l'emploi projeté.

Locksley et Sweet (1954) donnèrent sur ces questions une vue d'ensemble. Ils exposèrent les traitements des tumeurs cérébrales malignes par application du réacteur atomique, telle qu'elle était pratiquée par Farr, Sweet et leurs collaborateurs au Laboratoire national de Brookhaven. Mais « la prédilection inhabituelle du bore pour le tissu nerveux, avec ses effets toxiques concomitants, limite la fréquence des traitements par la boro-capture de neutrons ».

Soloway, en 1955, publiait des résultats d'une étude plus systématique qu'il avait entreprise des composés du bore, dans leur action chez les souris porteuses de gliomes. Il avait essayé sous ce rapport plus de 140 produits, dont le perhydrodecaborate de sodium $Na_2B_{10}H_{10}$.

Sur l'Homme, des traitements furent effectués par Sweet, Soloway et Brownell (1963) dans une salle d'opérations aménagée sous le noyau central du réacteur nucléaire du Massachusetts Institute of Technology.

Malgré des travaux opiniâtres (Soloway, 1964), qui continuent à s'échelonner pour chercher quels organoboriques seraient capables de sélectionner leur localisation préférentielle dans les tumeurs, Soloway et ses collaborateurs n'ont pu arriver à découvrir les substituants, sur le radical arylique des acides phénylboroniques, qui seraient aptes à résoudre le problème médical en suspens. Aucune propriété physico-chimique particulière ne s'est laissée déceler pour obtenir une meilleure option de localisation sur les tumeurs.

Soloway et ses collaborateurs ont alors pensé à s'adresser

à d'autres groupes de composés boroniques, pour voir s'ils n'étaient pas susceptibles de s'incorporer à la tumeur cérébrale plutôt qu'au cerveau normal.

Les cellules cancéreuses ont un métabolisme de l'acide nucléique plus actif que ne l'a une cellule normale. Partant de ce principe, Hatanaka, Soloway et Sweet (1967) se sont alors tournés vers les précurseurs de l'acide nucléique contenant du bore, en ayant l'idée que ceux-ci pourraient être fixés dans la tumeur cérébrale, tandis qu'ils seraient éliminés rapidement du sang. Dans ce but, ils ont expérimenté avec l'uracile, la thymine et une pyrimidine contenant du bore et ont mis au point une méthode détaillée très précise de traitements d'homogénats.

Sur ces précurseurs de l'acide nucléique, ils ont obtenu, pour la concentration en bore, un rapport maximal tumeur cérébrale/cerveau égal à 5,6, — un rapport maximal tumeur cérébrale/sang égal à 7,3, rapports obtenus environ 24 heures après la dernière injection, — chiffres qui semblent un vrai record.

A titre de comparaisons éventuelles, n'omettons pas les travaux faits sur les aryl-boroniques de substitution dans les tissus et les tumeurs, et sur les rapports de leur localisation (Hansch, Steward et Iwasa, 1965) : ils seraient peut-être utiles pour faire des rapprochements avec les tolyl-boroniques qui nous occupent.

Position actuelle du problème.

Après tout ce labeur si méritoire qui a précédé, l'orientation des recherches s'envisage assez nette. Entre autres, Hatanaka, Soloway et Sweet (1967) nous ont éclairé sous cet aspect.

Ils rappellent que la thérapeutique de capture de neutrons par le bore s'intègre bien dans le traitement des tumeurs cérébrales malignes par méthodes chirurgicales, radiothérapiques et chimiothérapiques. Mais ses résultats ont été décevants : à l'autopsie, on peut observer la nécrose cérébrale, la destruction étendue de la paroi des vaisseaux, une prolifération du collagène périvasculaire.

Ces défauts majeurs sont la conséquence probable d'une trop importante radiation intra-vasculaire, due à ce fait que la concentration du bore était plus élevée dans le sang que dans le tissu périvasculaire.

Cela trace la voie aux essais à venir.

Pour les traitements à expérimenter, on doit désormais satisfaire aux quatre conditions suivantes, qui sont absolument inévitables :

1) L'incorporation du bore dans la tumeur cérébrale doit être considérablement plus élevée que dans le cerveau environnant;

2) La concentration du bore dans la tumeur doit être suffisante pour tuer la cellule cancéreuse après la capture des neutrons;

3) Par contre, la concentration du bore dans le sang doit être assez faible lors de l'exposition aux neutrons, pour que les parois des vaisseaux ne soient pas lésées par l'irradiation intravasculaire;

4) Le bore ne doit pas se trouver en grande quantité dans les parois des vaisseaux, pour ne pas y apporter une cause supplémentaire de lésion.

Beaucoup de bore dans la tumeur, et aussi peu que possible ailleurs : tel serait l'idéal, évidemment irréalisé jusqu'à présent.

Aussi, malgré quelques succès relatifs, pourtant obtenus, l'irradiation du bore *in situ* ne fournit pas, à l'heure actuelle, une thérapeutique anticancéreuse sans difficultés ni réserves. Il n'en est pas moins vrai que les travaux sont à poursuivre, pour voir si des comportements mis au point sur le cerveau normal, sain, n'ouvriraient pas quelque perspective nouvelle d'application médicale sur le cerveau pathologique atteint de tumeur.

Dans cette intention raisonnée doit se poursuivre l'expérimentation avec les acides tolylboroniques.

Chapitre II

LE MATÉRIEL DE RECHERCHE : TUMEURS CÉRÉBRALES EXPÉRIMENTALES DU RAT

Pour avoir en laboratoire le matériel sur lequel on travaillera, on peut disposer des tumeurs spontanées et à partir d'elles. Celles-ci se conservent parfaitement à — 70° C, aux basses températures évitant toute altération (Morgan, Guerin, Morton, 1956) ; elles se prêtent ensuite à des transplantations successives.

Mais on sait (Snel et coll., 1961, Druckrey et coll., 1967) que chez le Rat, comme en général chez les animaux de laboratoire, les tumeurs intra-crâniennes spontanées sont très rares.

Dès lors, c'est avec des tumeurs artificielles, provoquées expérimentalement chez un animal sain, qu'on satisfait aux besoins des recherches.

D'ailleurs, les tumeurs artificielles du système nerveux central rentrent dans le même système de classification que les tumeurs spontanées chez l'Homme (Zülch, 1969) : leur nomenclature rentre par conséquent aussi dans le même cadre que celle des spontanées (Unio internationalis contra cancrum, 1959, 1969).

Le premier cancer expérimental fut obtenu en 1918 par deux Japonais, Yamagiwa et Itchikawa, à la suite d'applications répétées de goudron sur l'oreille du lapin. En 1921, Bloch et Dreyfus montraient les effets de quelques carbures polycycliques du goudron. En 1924, Kennaway confirmait ces résultats.

Dès lors, sur les cancers expérimentaux, la voie était ouverte aux chercheurs, qui auront à découvrir les races et espèces susceptibles de les élaborer, ensuite les techniques, les fréquences des renouvellements nécessaires des attaques de l'agent cancérigène, parfois même pendant longtemps.

Les publications sont devenues très nombreuses, avec maintes méthodes successivement précisées. La matière abonde à tel point que des traités généraux ont été indispensables, même s'ils sont réservés à certains aspects limités, ainsi celui de Busch (1967) sur les méthodes de transplantations tumorales. Un article récent de Georges (1969) rassemble de façon synthétique les facteurs exogènes de la carcinogenèse.

Sans entrer dans un sujet aussi vaste, qui dépasse de beaucoup de cadre de notre travail, bornons-nous à retenir quelques références, pour orienter sur les méthodes cancérigènes le plus généralement adoptées et pour introduire celle que nous aurons à choisir pour notre expérimentation.

Notons qu'avec une technique identique, on peut même obtenir des différences sensibles dans la production tumorale, selon que l'implantation est superficielle ou profonde, c'est-à-dire en fonction du site de cette implantation (Hopewell et Wright, 1969), ou selon le mode d'introduction (Brown et Goffinet, 1970).

Produits de combustion des matières organiques, goudrons et dérivés.

Les extraits des produits de combustion des matières organiques, parmi lesquels les goudrons occupent une grande place, se sont offerts comme les plus immédiats à manier : dérivés de l'anthracène et de ses sous-dérivés, phenanthrène, benzopyrène, cholanthrène, surtout methylcholanthrène. Certains sont si actifs qu'une injection sous-cutanée de 0,4 mg de la substance suffit à déterminer le cancer chez la souris.

Le *methylcholanthrène* a fourni matière à des techniques cancérigènes parmi les plus anciennement classiques. Voici, dans un ordre chronologique, quelques références qui orienteront :

— Weil (1938), de Chicago, à l'Institut de neurologie du Nordwestern University Medical School;

— Seligman et Shear (1939), au service de recherches sur le cancer de l'Université Harvard (U.S.A.), — et Alexander (1939), qui donna une diagnose différentielle des tumeurs obtenues expérimentalement;

— Zimmerman et Arnold (1941), au Laboratoire de pathologie de Yale University, New Haven, Connect. (U.S.A.);

— Van Haelst et Swaen (1963) à l'Institut d'anatomie pathologique de la faculté de Médecine de Nimègue (Pays-Bas), et au Nat. Institute of Cancer, Bethesda, Maryland (U.S.A.);

— Totsuka (1963), au département de neuro-psychiatrie de l'école de Médecine de l'Université de Chiba (Japon); — Kawai (1963) et les autres auteurs de l'école japonaise;

— Jänisch (1966), Jänisch et Kirsch (1967), à l'Institut pathologique de l'Académie de Médecine d'Erfurt (Allemagne);

— Homburger et Treger (1967), au Bio-Research Institute, Cambridge, Massachussets (U.S.A.);

— O'Gara, Stewart, Brown et Hueper (1969), au Laboratoire

de pathologie du Nat. Cancer Institute, Bethesda (U.S.A.), qui se sont surtout occupés des effets de la transplantation.

Le *benzopyrène* a servi notamment à Zimmerman et Arnold (1955).

Le *dibenzanthracène* a été utilisé par Weil (1938), par Peers (1939), par Arnold et Zimmerman (1943).

Le *7.12 dimethylbenzo (α) anthracène,* commercialisé par la Eastman Organic Chemicals sous la dénomination DMBA, est employé dans la technique de Wong-Chia et Cantino (1961), que nous allons résumer. Walters et Roe (1964) ont fait servir ce produit en présence de caséine, ce qui augmente le nombre de tumeurs des poumons chez des souris nouvelles-nées.

Un exemple de technique avec le DMBA : celle de Wong-Chia et Cantino.

Pour exemple d'une réalisation parmi les plus accessibles, nous condenserons celle de Wong-Chia et Cantino (1961), inspirée d'ailleurs de quelques méthodes américaines antérieures. Deux étapes : la production, puis la transplantation.

Production. — La solution de DMBA est faite à la concentration de 0,5 mg dans 0,1 ml d'huile d'olive; elle est stérilisée à la pression de 1 kg pendant 30 minutes et se conserve ensuite à la température de + 4° C jusqu'au moment de l'emploi.

Avec cette solution, on procède par injections sous-cutanées dans le dos de l'animal : 3 injections de 0,5 mg de DMBA chacune, se succèdent, chacune à 15 jours d'intervalle.

En général, les tumeurs apparaissent 120 jours après la dernière injection, c'est-à-dire 150 jours (soit 5 mois) après le début de l'expérimentation.

Transplantation. — Une tumeur, telle que la précédente, est extirpée aseptiquement, puis découpée en tout petits fragments et mise en suspension dans de la solution de Hanks stérile.

De cette suspension tumorale, on injecte 1 ml par voie sous-cutanée dans le dos.

Les tumeurs apparaissent alors de 13 à 16 jours après l'implantation de la suspension tumorale.

Les tumeurs expérimentales ainsi obtenues se présentent, dans tous ces cas, sous un type voisin des fibrosarcomes qu'on voit chez l'Homme.

Un exemple de technique par implantation cérébrale directe : celle de Caputo et Giovanella.

L'implantation directe de substances cancérigènes dans le cerveau est utilisée généralement. Caputo et Giovanella (1965) en ont bien détaillé les modalités.

Ils emploient le 20 methylcolanthrène ou le 3-4 benzopyrène ou le 1, 2, 6 dibenzoanthracène. L'animal anesthésié est fixé sur une table. Une partie de sa tête est épilée, lavée, pour préparer un champ opératoire. On procède à l'incision et, avec un scalpel, décolle le périoste de l'os. En se servant d'une fraise de dentiste, on fait dans le pariétal un trou de 3 mm. La dure-mère est traversée et incisée. On implante alors le cancérigène.

On referme le trou avec une matière plastique et après maintes précautions qui sont détaillées.

Durant les trois premiers jours qui suivent, il est prudent de faire des injections de pénicilline.

Substances organiques azocomposées.

Le *phényl-diméthyl-triazène* a été employé entre autres par Druckrey, Ivancovic et Preussmann (1967) à l'Institut d'immunologie de Freiburg-im-Breisgau : par voie orale, avec la sonde de Magen, à la dose de 50 mg/kg; par voie sous-cutanée, à la même dose en une fois. On obtient une forte proportion de tumeurs malignes, dont ces auteurs ont figuré un gliome polymorphe du cerveau de rat, de 302 jours après l'administration orale.

Le *subacétate et 2. acetylaminofluorine,* composé connu sous ce nom, se vit utilisé par Oyasu, Barrifora, Clasen, Mc Donald et Hass (1970).

Les *nitrosoamines* ont été très essayées, surtout par Druckrey et son école de Freiburg-im-Breisgau. Celui-ci s'était occupé de la production de tumeurs du foie par un de leurs dérivés (Druckrey, Schmahl et Dischler, 1963). Il se mit alors à rechercher de façon très systématique les relations possibles entre la constitution chimique des nitrosoamines et leurs propriétés cancérigènes. Ses travaux furent continus et multiples. Les principaux composés dont il se servit furent la N, N'-di-nitrosopipérazine, la nitrosopipéridine, la nitrosomorpholine, la méthyl-allyl-dimethyl et methyl-vinyl-nitrosamine. Ces produits, introduits chez le rat, y déterminent sélectivement des carcinomes des fosses nasales. Les essais ont porté sur de nombreux sujets, autant de mâles que de femelles.

Pour la dinitrosopipérazine, l'administration était faite par

voie sous-cutanée : une fois par semaine, puis deux fois, à la dose de 10 mg/kg de poids de l'animal. Même voie pour la N-nitrosopiperidine. Temps approximatif du développement tumoral : 366 + ou — 42 jours.

Pour les autres nitrosoamines, notamment la N-nitroso-morpholine et la methyl-allyl-nitrosoamine, l'administration était faite par voie intra-veineuse, une fois par semaine, à une dose allant jusqu'à 10 mg/kg.

Avec la dimethyl-nitrosoamine, on procédait aussi par inhalations.

Les résultats de ces recherches détaillées ont été rapprochés dans un travail plus général, qui en fait la comparaison et qui se laisse consulter utilement (Druckrey, Ivankovic, Mennel et Preussmann, 1964).

L'*éthyl-nitrosourée* (ÄNH) a eu ses propriétés cancérigènes exploitées, notamment par Druckrey, Ivankovic et Preussmann (1966), par Ivankovic et Druckrey (1968). Des tumeurs produites par injections I.V. de ce produit, la morphologie et l'histologie ont été étudiées par Grossi-Paoletti, Paoletti, Schiffer et Fabiani (1970).

La *methyl-nitroso-urée* ou N-methyl-N-nitrosourée ou MNH (initiales du vocabulaire allemand methyl-nitroso-harnstoff) ou MNU, qu'on a tendance maintenant à écrire nitroso-methyl-urée, est de plus grande notoriété. C'est un dérivé de la nitrosamine qui a, sur le système nerveux central, des effets cancérigènes, montrés pour la première fois par Druckrey, Ivankovic et Preussmann (1964, 1965). Ce produit est décomposé par les tissus animaux et libère alors le diazométhane, qui est le carcinogène proprement dit. Cela explique son intervention spontanée au point d'application même; mais, par voie I.V., il va plus loin et détermine la production de tumeurs malignes du cerveau dans un temps de 276 jours.

Des tumeurs cérébrales et nerveuses produites par ce composé, la structure histologique a été étudiée par Thomas et Kersting (1964), par Schiffer, Fabiani, Grossi-Paoletti et Paoletti (1970), par Scmideck, Nielsen, Schiller et Messer (1971); au microscope électronique par Jänisch, Lageman, Dietz et Schreiber (1970). Kersting (1965), après un bref rappel de la méthode cancérigène par application intra-cérébrale d'un cristal de methylcolanthrène, s'étend longuement sur les propriétés de cette methylnitrosourée.

Jänisch et Schreiber (1967) ont opéré par injections intra-

veineuses sur des lapins des deux sexes. Ils dissolvaient leur MNH dans la solution physiologique de Na Cl, additionnée de 1 % de Na H_2 PO_4. Les injections étaient faites dans la veine du bord de l'oreille : elles se suivaient à des intervalles de 14 jours, avec une dose unique de 10 mg/kg du corps, et étaient poursuivies jusqu'à la mort de l'animal en expérience. Suivant la résistance des sujets, les durées de l'expérimentation ont donc varié de 252 à 293 jours, le nombre total d'injections successives est allé de 19 à 21, la quantité totale de produit administré à chacun a été comprise entre 452 et 554 mg.

Jänisch, Schreiber, Stengel et Steffen (1967) ont obtenu chez le rat, en des temps de l'ordre de 272 jours, dans le système nerveux central, la formation de gliomes qui sont de trois types : glioblastome multiforme, astrocytome, gliome non classé.

Une note un peu discordante était apportée par Thomas, Sierra et Kersting (1967, 1968), qui ont opéré sur le rat par voie orale (eau de boisson), ont atteint des temps d'induction de 241 ± 40 jours, puis, par voie intra-veineuse, des temps d'induction de 249 jours. Ils ont bien constaté une action cancérigène neurotrope, mais le cerveau lui-même était, d'après eux, dépourvu de tumeurs.

Contre cette opinion, Schreiber, Jänisch, Scholtze et Tausch (1968) se sont élevés; car ils ont obtenu, par voie I.P., des tumeurs du système nerveux central, à partir du 97e jour.

C'est sur des lapins que Kleihues, Zülch, Matsumoto et Radke (1970) opèrent, par injection I.V. de MNU (dissous, dans une solution stérile de Na Cl à 0,9 %, en proportion de 0,8 ou de 1,3 % et ajustée à pH 5-6 par addition de dihydrogène phosphate de sodium). Injections dans la veine de l'oreille, chaque quatorze jours (sauf exception) : dose totale 150 mg/kg : expérimentation sur 349 jours. Les gliomes obtenus sont l'objet d'une étude histologique très poussée.

Les tumeurs du système nerveux obtenues par la MNH, comme par les nitrosoamines en général, ont été examinées pour classification par Sehrbundt, Mennel, Wechsler et Zülch (1970).

L'influence du jeune âge sur les effets cancérigènes de la N-méthylnitrosourée a été étudiée par Terracini et Testa (1970) qui, sur les sujets nouveaux-nés et sur ceux âgés de cinq semaines ont observé, après injection I.P., des réactions un peu différentes.

On notera (Weiss, Grossi-Paoletti, Paoletti, Schiffer et Fabiani, 1970) que, dans les tumeurs expérimentales du cerveau obtenues par voie I.V. avec la méthylnitrosourée, il s'accumule beaucoup de desmosterol, qui est le 24-déhydrocholestérol : ce

précurseur du cholestérol représente de 5 à 20 % du total des stérols du cerveau pendant son développement, tandis qu'il n'existe guère plus dans le cerveau adulte normal. Ce serait peut-être une occasion d'utiliser les méthodes de la radio-autographie du cholestérol cérébral (Gautheron et Chevallier, 1971). Sur les stérols, précurseurs du cholestérol dans la tumeur cérébrale, on connaît des précisions récentes (Galli, Galli-Kienle, Cattabeni, Fiecchi, Grossi-Paoletti et Paoletti, 1970).

Rappelons enfin que, comme les nitrosamines, la méthylnitrosourée a des propriétés mutagènes, sur lesquelles s'est penché, entre autres, Pasternak (1963).

La *N, N' N'-triméthylnitrosourée,* corps évidemment voisin du précédent est, par contraste avec lui, soluble dans l'eau et chimiquement plus stable.

Ivankovic, Druckrey et Preussmann (1965) l'ont donné dans l'eau de boisson, à la dose de 3 mg/kg de poids de l'animal et par jour. Ils ont ainsi réalisé des tumeurs du cerveau et des nerfs périphériques.

La *N-méthyl-N-nitroso-N'-acétylurée* (AcMNH) a été expérimentée en voie orale par Druckrey, Ivankovic et Preussmann (1970).

Les produits tels que *N-alkylurée, N-alkylsulfonamide, N,N-dialkylacétamide, N-méthylthionacétamide, chloracétamide,* sont des cancérigènes, dont l'action s'accompagne de propriétés tératogènes qui ont été indiquées par Th. von Kreybig, Preussmann et I. von Kreybig (1969). Des travaux de Grossi-Paoletti (1970) sont à mentionner.

Un exemple de technique avec la méthylnitrosourée : celle de Stroobandt et Brucher.

Résumons les travaux de Stroobandt et Brucher (1968), de l'Université de Louvain. Ils utilisent la méthylnitrosourée, préparée et purifiée selon la méthode Fluke, stabilisée par 20 % d'acide acétique à 3 %, et conservée au frais, à l'obscurité. Ils en font ensuite, dans l'eau distillée, une solution à 1 p. 1.000, qui doit être préparée extemporanément.

Celle-ci est administrée par tubage gastrique, à raison de 5 mg/kg de poids, et cela 4 à 5 fois par semaine. Comme terme de comparaison, on opère parallèlement sur des sujets-témoins, mais en ne leur administrant que de l'eau distillée.

Ainsi, les sujets traités reçoivent un total de 435 mg/kg de substance dans la tranche des 134 premiers jours de l'expérience.

C'est le 163e jour que fut découverte la première tumeur.

Malgré sa simplicité, cette méthode présente des difficultés. Le produit étant très toxique, un certain nombre de sujets deviennent rapidement malades et meurent très prématurément. Il y a des complications infectieuses intra-thoraciques.

La présomption de l'apparition et du développement des tumeurs ne peut se faire que sur des indices extérieurs, apparition de signes neurologiques et surtout état de cachexie. Cela n'a pas trop d'importance en soi, pour ceux qui ne veulent étudier que la tumeur elle-même, dans son état.

Mais quand on se propose, comme nous, sur cette tumeur, d'administrer le tolylboronate de Na et de sacrifier ensuite l'animal à une échéance déterminée, on ne peut le faire qu'un peu à l'aveuglette, sans trop savoir ni le stade, ni la nature du cancer formé : principalement des gliomes, mais aussi médulloblastomes dans le cervelet, gangliocytomes malins, sarcomes adventiciels, neurinomes malins du système nerveux périphérique, sans compter, chez presque tous, des tumeurs viscérales.

Enfin la manipulation exige beaucoup de prudence, en raison des répercussions nocives éventuelles sur le système nerveux humain. Des ouvriers de l'Ohio, qui manipulaient ce produit pour l'industrie du caoutchouc, présentaient une fréquence inhabituelle de tumeurs cérébrales (Mancuso, 1963) : Druckrey montra, en 1964, ce danger et « semble avoir obtenu que l'on retire ce produit du commerce ».

Produits anti-tumoraux.

Pour ne pas laisser trop bref cet aperçu sur des techniques cancérigènes, nous devons, en annexe, ne pas laisser ignorer celles qui, en expérimentation, s'y opposent. Mais nous n'avons pas à nous y étendre, puisqu'elles vont à l'encontre des buts expérimentaux que nous poursuivons ici, en vue de la confection de cancers artificiels.

Signalons au passage que les produits anti-tumoraux sont nombreux : Stock (1967) fournit à leur sujet plus de 400 références. Citons comme récemment signalés, à ce point de vue très particulier, la 1,3 bis (2-chloroethyl)-1-nitrosourée, diffusée sous la désignation BCNU, la 1-méthyl-1-nitrosourée ou NSC-23909, l'hydroxyurée ou NSC-32065, qui ont exercé des activités anti-tumorales chez le rat (Sugiura, 1967), — aussi la 1-(2-chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourée ou CCNU, qui a prouvé son activité anti-tumorale sur des gliomes chez le rat (Levin, Shapiro, Clancy et Oliverio, 1970).

Chapitre III

LOCALISATION DU BORE DANS LES TUMEURS EXPÉRIMENTALES DU RAT

Essais accomplis.

J'ai suivi dans ses grandes lignes la technique de Stroobandt et Brucher, en l'adaptant dans quelques détails.

Préparation du produit. — La methylnitrosourée est une substance très altérable, surtout en solution aqueuse.

La première condition nécessaire est donc d'avoir un produit pur, fraîchement préparé. Celui que nous avons utilisé a été fabriqué spécialement pour nos recherches par M. Lecointe, ingénieur au C.N.R.S., dans le Laboratoire de pharmacie chimique de la Faculté de Pharmacie. Le produit nous a été remis immédiatement et placé en réfrigérateur à + 4°C.

On ne doit jamais oublier la fragilité de ses solutions. Leur stabilité dépend beaucoup du pH : à la température moyenne de + 20°C, 125 heures à pH 4, 24 heures à pH 6, 3 à 4 heures à pH 7 (selon Thomas, Sierra, 1967). Certains auteurs tamponnent la solution avec 1 % de Na H_2 PO_4 et maintiennent un pH de 4,3 à 4,4 (Schreiber, Jänisch, Scholtze et Tauch, 1968, pour injections I.V.).

Autre point : stabiliser le produit lui-même dès sa fabrication, en le traitant par 20 % d'acide acétique à 3 %. C'est ce qu'ont fait Stroobandt et Brucher et ce que nous avons fait nous-mêmes. *A priori,* nous hésitions quelque peu à mouiller la methylnitrosourée, qui est une poudre, par un cinquième de son poids de liquide, craignant d'obtenir une sorte de pâte altérée et non utilisable. En réalité, il n'en est rien : la poudre, mise dans une capsule, est doucement remuée par un agitateur et absorbe alors le liquide. Elle est ensuite remise au réfrigérateur à + 4° C, ce qui la place aussi à l'abri de la lumière.

Au moment de l'emploi, j'en fais, dans un Erlenmeyer, une solution à 1 p. 1.000 dans l'eau distillée. Le pH en est de 5,4.

Mise en expérience. — Le moment vient d'expérimenter sur les sujets, toujours des rats Wistar A.G., mâles adultes.

Mettons à part un lot de 10 témoins qui ne recevront par tubage que de l'eau distillée (2 ml par jour).

Je constitue pour l'expérimentation un lot de 50 rats, auxquels l'administration du cancérigène sera faite par voie orale, en introduisant par la bouche une sonde en capillotube, d'environ 5 cm de long; celle-ci est ajustée à une seringue qui pousse le volume nécessaire de la solution. La dose est chaque fois de 5 mg de methylnitrosourée par kg de poids de l'animal.

Ces opérations demandent des précautions et une manipulation délicate, pour éviter ou limiter au maximum les effets des vapeurs du produit et de sa solution. Car, au bout de très peu de séances, on commence à ressentir des picottements au visage, avec apparitions de rougeurs : actions qui se retrouvent avec la plupart des composés nitrosés. Il fallait donc penser aux répercussions indirectes du cancérigène.

Aussi avons-nous disposé, dans les animaleries du Centre, d'un pavillon isolé, facilement ventilable en cas de besoin et pourvu des moyens de nettoyage les plus modernes, et où ne se trouvaient que les rats en expérience.

Comme précaution individuelle, nous avons utilisé des masques de chirurgien qui, après chaque séance, étaient incinérés. Les lavages immédiats à l'eau tiède sont aussi à pratiquer efficacement, car le produit est bien soluble.

C'est dans un tel cadre que nous avons effectué le tubage gastrique de nos sujets : quotidiennement, par périodes de 5 jours consécutifs par semaine, donc séparées par 2 jours de repos.

Évolution des sujets traités.

Symptômes au cours de l'expérimentation.

Le lot de rats soumis à l'action de la méthylnitrosourée ne tarde pas à donner des signes d'un état devenant pathologique.

Mortalité par phénomènes pulmonaires précoces.

Dans le courant du premier mois, quatre sujets sont morts à peu de jours d'intervalle. L'autopsie y a identifié soit une pleurésie, soit une pleurite. Il est vraisemblable que ces sujets étaient fragiles sous le rapport pulmonaire; et le premier résultat de l'affaiblissement par le produit injecté s'est traduit par leur élimination.

Marques extérieures.

L'expérimentation progressant, vers la fin du 2e mois, nous avons remarqué, sur six sujets, des chutes de poils au niveau du museau et du cou : d'abord clairsemées, puis plus intenses et provoquant alors la dénudation totale de la peau.

Deux autres sujets ont été atteints de conjonctive purulente.

Symptômes de déclin.

Nous voici vers le 120e jour.

En corrélation intime avec l'amaigrissement progressif et rapide qu'on examinera plus loin à propos de la variation de poids, nous observons des symptômes significatifs du déclenchement de la maladie, de son implantation, qui acheminera vers la fin :

— Flaccidité générale des muscles sur la totalité du corps, dont on se rend compte par l'attitude du sujet et en pratiquant le toucher;

— Démarche chancelante, qui n'est pas encore la paralysie, mais qui l'annonce;

— Agressivité à l'égard du manipulateur, traduction du malaise interne que ressent le rat et qui accentue son attitude d'auto-défense contre ce qui essaye de lui nuire et de le déranger;

— Spasme tussif, sorte de toux spasmodique et sèche, comme un hoquet affaibli, qui semble être le lot de ceux chez qui sera découverte un peu plus tard une tumeur du médiastin supérieur;

— Anurie, puis émission raréfiée d'une urine sanguinolente, qui est l'indice de ceux chez qui nous trouverons des tumeurs vésicales et rénales.

Symptômes d'évolution pathologique ultime.

Nous sommes maintenant au 140e jour de l'expérimentation.

Les phénomènes tumoraux internes gagnent avec rapidité, et, de l'extérieur, on en perçoit quelques manifestations directes :

— Dépigmentation des yeux qui survient chez certains : de roses qu'ils étaient, ils deviennent blancs, et peut-être alors l'animal est aveugle, mais nous n'avons pu le vérifier formellement en raison de la torpeur dans laquelle il est plongé;

— Paralysie complète des pattes postérieures, avec une attitude oblique particulière de la colonne vertébrale;

— Grosseur abdominale, sensible au palper externe et qui est en rapport avec une tumeur au colon;

— Enflure de la tête au niveau des glandes salivaires, chez ceux qui, à l'autopsie, présenteront une tumeur de ces glandes salivaires.

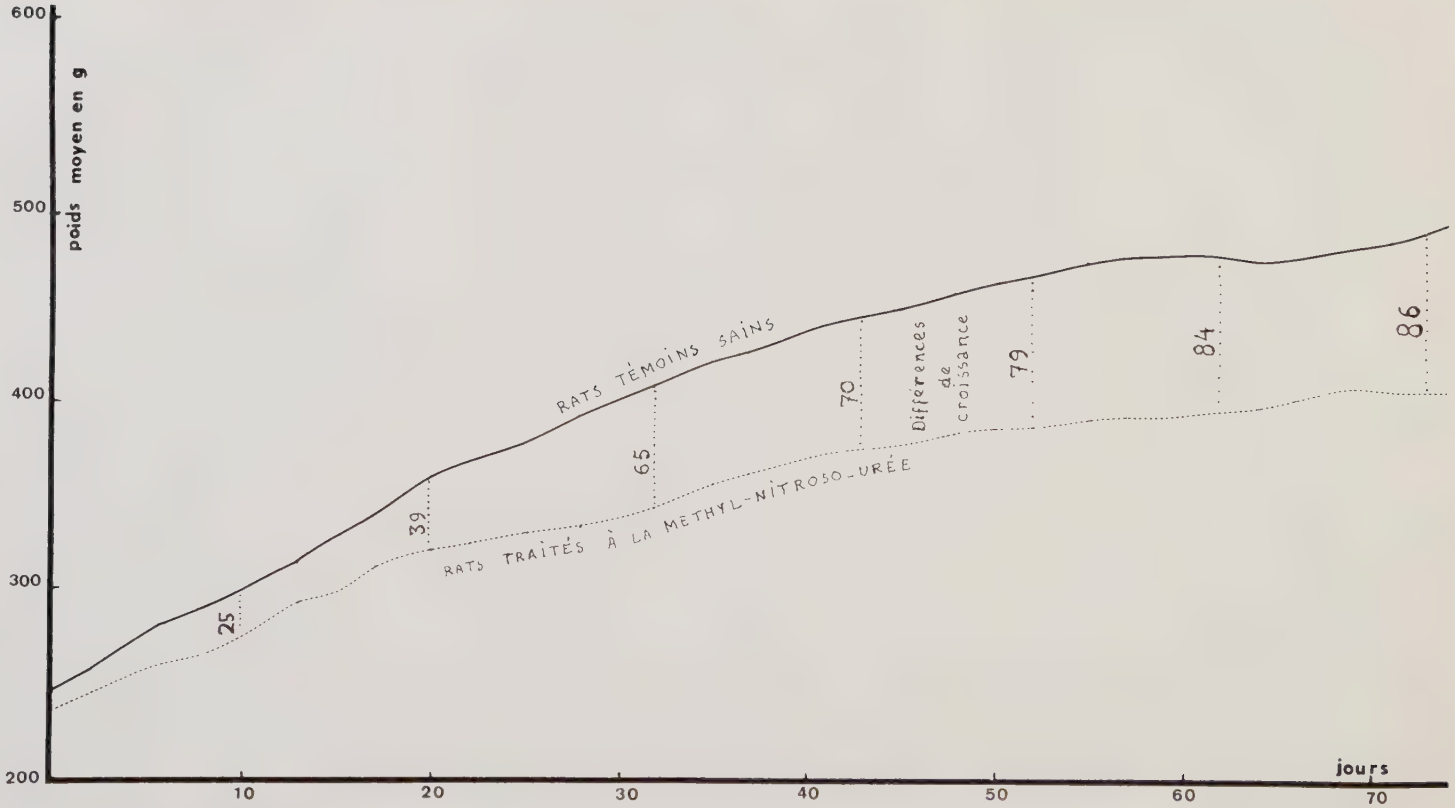


FIG. 10. — *Courbe de croissance du poids moyen des sujets, entre le 1er et le 74e jour de l'expérimentation par la méthyl-nitroso-urée.* En abcisses, jours depuis le début. En ordonnées, poids moyen des sujets.

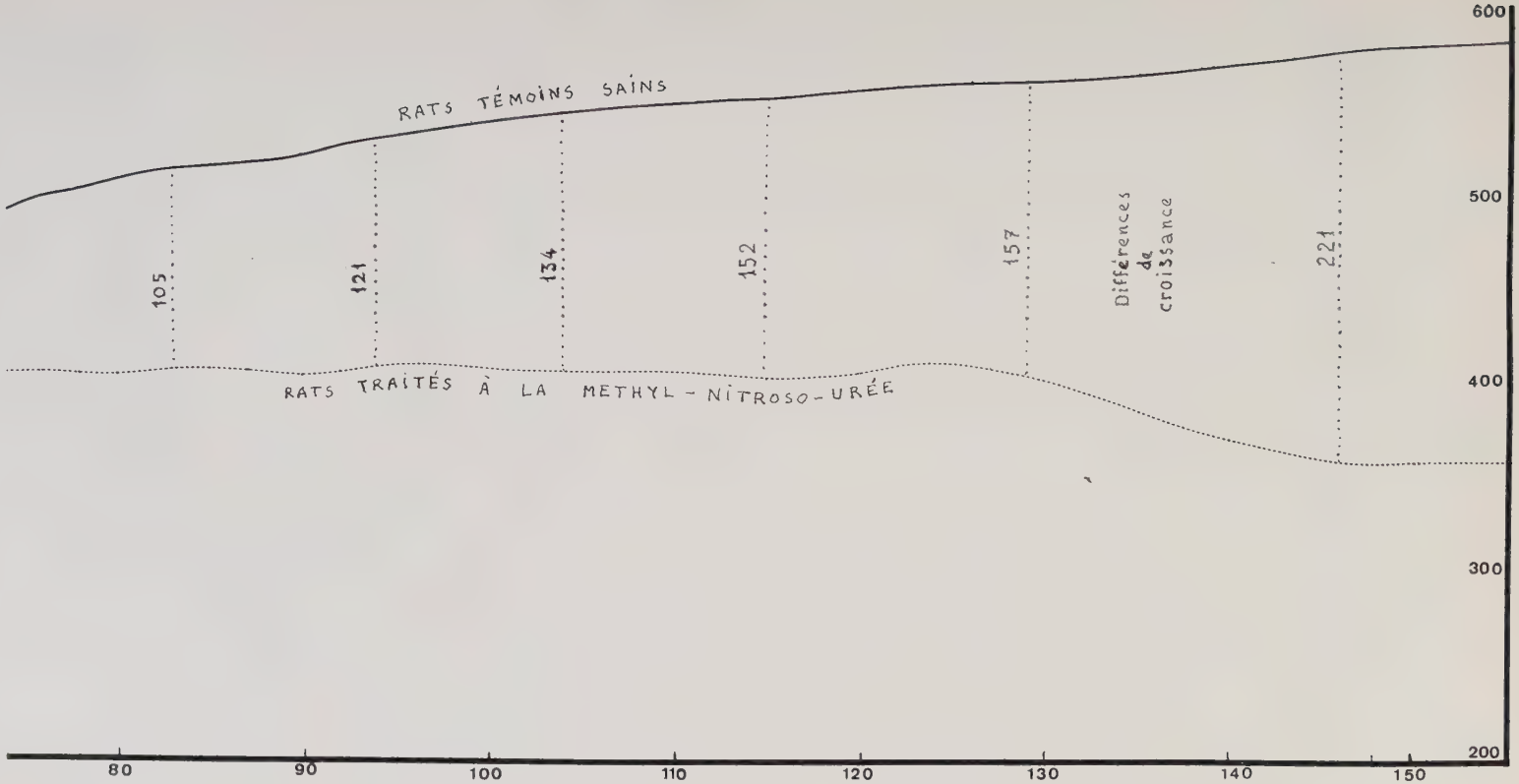


FIG. 11. — *Courbe de croissance du poids moyen des sujets ,entre le 75e et le 155e jour de l'expérimentation par la methyl-nitroso-urée.* Cette figure prend suite à droite de la précédente.
En abscisses, jours depuis le 75e jusqu'au 155e, fin de l'expérience. En ordonnées, poids moyen des sujets.

Évolution du poids au cours de l'expérimentation.

L'observation directe des sujets et l'étude de leurs variations de poids durant leur croissance révèle, au premier coup d'œil, une modification dans le régime de cette croissance suivant les jours (fig. 10 et 11).

Au départ de notre expérimentation, le poids moyen des sujets-témoins est 247 g, celui des sujets traités avec la méthylnitrosourée est 240 g. C'est dire que ces poids moyens sont, non pas identiques, mais très voisins, puisque l'écart ou différence de croissance entre eux n'est que de 7 g.

Une première période, qui s'étend jusque vers la fin du 2e mois, assiste à une augmentation régulière du poids, comme c'est de règle en acquérant de l'âge; mais si elle croît normalement pour les témoins, cette croissance est ralentie chez les sujets traités, — si bien que l'écart entre les poids moyens augmente rapidement :

vers le 21e jour	39 g
vers le 33e jour	65 g
vers le 44e jour	70 g
vers le 53e jour	79 g
vers le 63e jour	84 g

Une deuxième période se caractérise dès la fin du 2e mois.

Pour les rats-témoins, le poids continue à augmenter, mais moins vite assurément que dans la période précédente, puisque l'animal a déjà bien grandi; mais l'augmentation continue tout de même.

Pour les sujets traités, leur poids moyen n'augmente plus et reste à peu près stationnaire : la courbe, qui représente graphiquement l'évolution du poids moyen, se trace là comme sur un palier assez régulier.

L'écart entre les poids moyens des sujets-témoins et ceux des sujets traités à la MNH s'accroît beaucoup, entre l'augmentation chez les témoins et la stagnation chez les traités :

vers le 74e jour	86 g
vers le 84e jour	105 g
vers le 95e jour	121 g
vers le 106e jour	134 g
vers le 117e jour	152 g

Une troisième et dernière période s'amorce vers le début du quatrième mois.

Le poids moyen des sujets-témoins continue à croître, mais alors très lentement, car ils approchent du poids normal d'adulte.

Par contre, celui des sujets traités, qui était resté stationnaire durant toute la période précédente, se met ici à diminuer. L'écart entre les deux poids moyens continue alors à croître, à la fois par l'élévation de la valeur chez les témoins, mais aussi par diminution de celle des traités :

vers le 130e jour ..... 157 g
vers le 150e jour ..... 221 g

Et c'est la fin de l'observation, tous les sujets expérimentés ayant été utilisés pour les effets du metatolylboronate.

Résultats.

Pour la production de tumeurs par la méthylnitrosourée, nous sommes partis avec un lot de 50 rats Wistar A.G. mâles, de poids moyen 247 g, à soumettre à ce cancérigène.

Le destin de ces animaux a été variable.

I. — Sujets morts vers les premiers temps, par complications pulmonaires : 4.

II. — Sujets sacrifiés en cours d'expérimentation et portés pour contrôle au service d'anatomie pathologique : 18.

Parmi ces 18, 5 ont été reconnus porteurs de tumeurs :

— Un au 122e jour, avec une tumeur du médiastin supérieur et une au colon;
— Un au 123e jour, avec une tumeur du médiastin supérieur;
— Un au 123e jour, avec une tumeur au colon;
— Un au 146e jour, avec une tumeur au médiastin supérieur;
— Un au 152e jour, avec une tumeur au colon.

III. — Sujets restant à la fin du traitement par la méthylnitrosourée et disponibles pour recevoir l'administration de metatolylboronate de sodium : 28.

Sur ces sujets, nous avons procédé, comme à l'ordinaire, à l'injection intra-péritonéale de la solution de metatolylboronate, à la dose de 0,20 g par kg de poids de l'animal.

Puis nous avons sacrifié ces sujets, à des échéances échelonnées après le moment de l'injection, soit, selon les sujets, 10 mn, 30 mn, 1 h, 2 h ou 4 h.

Nous avons alors fait immédiatement les prélèvements de cerveaux pathologiques pour y doser le bore, en même temps que chacun des sujets était examiné au point de vue de l'anatomie pathologique.

DOSAGE DU BORE DANS LE CERVEAU PATHOLOGIQUE

EN μg B/g

après injection du metatolylboronate.

Jour : compté pour le sujet depuis le début du traitement à la méthylnitrosourée.
Cv : tumeur au cerveau.
ME : tumeur à la moëlle épinière.
Th : tumeur au mediastin supérieur.

Jour	N° du sujet	Echéances 10 mn	30 mn	1 h.	2 h.	4 h.
116e	1			3,4		
—	2			5		
—	3				5,4	
—	4				11,6	
—	5				5,8	
—	6					7,1
—	7					20
121e	8				37,4 Cv	
—	9				11	
126e	10		45			
—	11		30			
135e	12			83 Cv		
—	13			83 Cv		
144e	14	5,8				
—	15	11,2				
		51 ME				
147e	16	40				
		22,8 Th				
—	17	38 Cv				
		trace ME				
		30 Th				
—	18	80 Cv				
		28 Th				
—	19	84 Cv				
		30 Th				
149e	20	16				
		14 ME				
—	21	25				
		8 ME				
—	22	42,5 Cv				
		21 ME				
151e	23		25			
154e	24		19			
155e	25		30,2			
—	26		22,3			
—	27		12,6			
	28		19,3			

FIG. 12. — *Tumeur multinodulaire du colon ascendant et transverse. — Rat mâle, sacrifié après 108 jours de traitement par la méthyl-nitroso-urée.*

L'aspect microscopique est identique à un epithelioma glandulaire plus ou moins muco-sécrétant.

Processus neo-plasique envahissant rapidement la musculeuse, avec sur-infection très importante.

Sur les formes tumorales réalisées par notre expérimentation avec la methyl-nitroso-urée.

Comme l'ont remarqué les auteurs qui nous ont précédé, les tumeurs produites par la MNH peuvent naître dans divers organes de l'animal et aussi se présenter multiples chez un même sujet.

L'Anatomie pathologique permet de distinguer, dans les résultats de nos expérimentations, — à la fois dans ceux non traités et dans ceux traités par le metatolylboronate de sodium — trois groupes de sujets tumoraux.

Les examens histologiques ont été effectués, après inclusion dans la paraffine, sur des coupes pratiquées, puis colorées par les méthodes classiques qu'il serait hors de propos de rappeler ici.

1er groupe : **tumeurs viscérales.**

Ce genre de tumeurs est prédominant, puisque sur 37 rats examinés 24 étaient porteurs d'au moins une tumeur viscérale. On y peut distinguer deux catégories.

a) *Tumeurs de l'appareil digestif.* — Le cas le plus fréquent (nous en avons obtenu 11) est celui de tumeurs multinodulaires, en grappe, sur le colon, et provoquant d'importantes adhérences iléocoliques (*fig.* 12).

Les animaux qui portaient de telles tumeurs étaient très cachectiques. Ces tumeurs sont à évolution locale, sans métastases à distance. Elles déterminent un amaigrissement considérable, mais sans anorexie.

b) *Tumeurs lymphoides.* — Nous avons obtenu 9 porteurs de ce type de tumeur.

Dans 8 de ces cas, il s'agit d'une masse tumorale retrosternale et médiastinale, blanchâtre, respectant trachée et œsophage : les lobes thymiques ne sont plus discernables.

Dans un autre cas, les ganglions retro-sternaux sont hypertrophiés et congestifs.

Ce sont des réticulo-sarcomes à prédominance réticulaire, des lymphosarcomes lymphoblastiques : disparition de toute structure ganglionnaire, prolifération lymphoblastique diffuse, effondrant les capsules ganglionnaires et enrichissant les tissus voisins.

2e groupe : **tumeurs nerveuses.**

Elles ont deux distributions, soit dans le cerveau, soit dans la moelle.

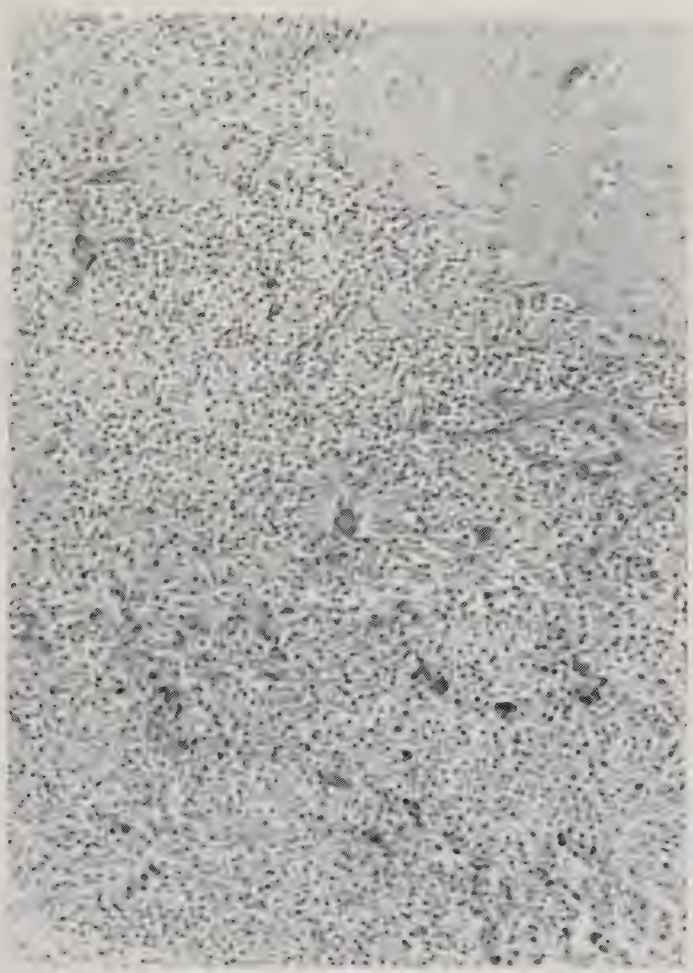


Fig. 13. — *Oligodendrogliome intra-cérébral. Rat mâle, sacrifié après 140 jours de traitement par la méthyl-nitroso-urée.* Gross. × 100.

Aspect clair du cytoplasme des cellules.

Oligodendrogliome accompagné d'une réaction astrocytaire périvasculaire.

a) *Tumeurs intra-cérébrales.* — Ce sont essentiellement des gliomes : nous en avons obtenu 7.

A quelle catégorie appartiennent-ils? Il est assez difficile de répondre dès l'abord, car on sait que leurs classification est complexe à cause de leur polymorphisme.

Mais le premier point intéressant pour nos expérimentations est la détermination du *moment de début de la tumeur cérébrale.* Le cas le plus précocement reconnu l'a été chez un rat sacrifié au 116e jour de notre traitement par la méthyl-nitrosourée. A vrai dire, à la dissection du système nerveux, aucune anomalie macroscopique n'était décelable; mais l'examen microscopique du plan de coupe passant par les lobes occipitaux a permis de constater une discrète hyperplasie oligodendrogliale, se développant dans la substance blanche, au pourtour de la corne occipitale d'un ventricule latéral, et dont les cellules sont typiques.

Nous pouvons montrer (*fig.* 13) la microphotographie d'un oligodendrogliome accompagné d'une réaction astrocytaire périvasculaire, chez un rat sacrifié le 140e jour du traitement par la MNH.

Nous présentons (*fig.* 14) la microphotographie d'une tumeur arrondie, de la taille d'une lentille, très vascularisée, existant dans le chiasma optique; les deux nerfs optiques sont hypertrophiés.

b) *Tumeurs médullaires.* — Nous avons réalisé quelques tumeurs de la moelle épinière.

Les racines nerveuses de la queue de cheval sont refoulées sur les côtés par une masse latérale lisse, en rapport avec la moelle et diffusant le long du nerf sciatique droit, hypertrophié et adhèrent aux muscles, ce qui explique la paralysie qui avait été reconnue chez les animaux qui en étaient porteurs.

3e groupe : **tumeurs diverses.**

D'autres localisations tumorales existaient :

a) Tumeur parotidienne : épithelioma glandulaire non mucosécrétant.

b) Tumeur vésicale : épithelioma de la vessie.

c) Tumeurs cardiaques : deux cas de tumeurs sous-endocardiques.

d) Tumeur vasculaire kystique, adhérente à la paroi musculaire du canal déférent, à 1 cm de la vésicule séminale : type hémangio-péricytome

Fig. 14. — *Tumeur arrondie, encapsulée, très vascularisée, localisée entre les deux nerfs optiques hypertrophiés.* — Rat mâle, sacrifié après 121 jours de traitement par la methyl-nitroso-urée.

La voûte crânienne a été enlevée, découpée aux ciseaux. Le cerveau a été relevé au premier plan pour laisser voir en place la tumeur arrondie qui était au-dessous.

La flèche blanche est dessinée sur le corps même de la tumeur et sa pointe en marque le centre.

e) Tumeur contre un rein, mais sans y adhérer : sarcome polymorphe.

f) Tumeur sous-cutanée dans la région sus-inguinale : sorte d'épithelioma.

On le voit donc par ce qui précède : la méthyl-nitroso-urée est loin d'être un agent cancérigène spécifique du système nerveux central. Si dans nos observations on relève un nombre important de tumeurs cérébrales, on n'obtient en réalité qu'un pourcentage limité de néoplasies spécifiquement limitées aux tissus nerveux.

Discussion sur les teneurs en bore obtenues dans les tumeurs cérébrales.

Liste des sujets à tumeurs provoquées du cerveau.

Du tableau général des rats expérimentés par la MNH, isolons d'abord, pour les voir dans leur ensemble, ceux qui portaient des tumeurs cérébrales bien authentifiées par l'anatomie pathologique.

Tumeurs au cerveau (au nombre de 9)

N° du sujet	Temps du traitement à la MNH	Temps écoulé après le moment de l'injection de métatolylboronate de sodium	Teneur en bore en μg B/g
7	116 jours	4 h	20
8	121 jours	2 h	37,4
12	135 jours	1 h	83
13	135 jours	1 h	83
17	147 jours	10 mn	38
18	147 jours	10 mn	80
19	147 jours	10 mn	84
21	149 jours	10 mn	25
22	149 jours	10 mn	42,5

Comparaison des échéances entre elles, quant à l'évolution des teneurs en bore qu'elle décèle dans les tumeurs :

Échéance	Teneurs chez les divers sujets
10 mn	25 - 38 - 42,5 - 80 - 84
1 h	83 - 83 - moyenne 83.
2 h	37,4
4 h	20

Les teneurs les plus fortes dans les tumeurs de nos essais sont aux échéances de 10 mn et de 1 h.

Mais les résultats sont trop peu nombreux pour en tirer une conclusion d'ensemble catégorique sur le régime d'évolution du bore avec le temps dans la tumeur.

Comparaison, par rapport au cerveau normal, des teneurs en bore dans les tumeurs cérébrales obtenues.

Échéances	Teneur en bore, en μg B/g, après traitement au métatolylboronate	
	dans le cerveau normal	dans les tumeurs cérébrales obtenues
10 mn	32 à 39, moyenne 36	25— 38= 42,5+ 80++ 84++
1 h	50 à 76, moyenne 60	83++ 83++
2 h	66 à 83, moyenne 70	37,4—
4 h	38 à 62, moyenne 52	20—

Si nous considérons ces résultats, assez dissemblables, nous sommes frappés par ces nombres dont, par rapport aux teneurs dans le cerveau normal, trois sont inférieurs (—), un égal (=), un supérieur (+) et quatre très supérieurs (++).

Commentaire sur les conditions de la fixation du bore dans les tumeurs cérébrales de chaque sujet.

La variabilité des valeurs précédentes paraît curieuse et incite à réfléchir sur les conditions de l'expérimentation et sur les incertitudes de l'interprétation. Car toutes les matières offertes à nos prélèvements n'ont pas été identiques.

Sujet n° 7. — Tumeur cérébrale, d'apparence limitée. Étant donné le prélèvement, l'absence d'autre plan de coupe ne permet pas d'apprécier l'extension exacte de cette prolifération oligodendrogliale; mais celle-ci paraît limitée. Notre prélèvement pour le dosage du bore a pu passer à côté de la zone affectée par le processus néoplasique.

Sujet n° 8. — Tumeur dans le chiasma optique : astrocytome.

Sujet n° 12. — Oligodendrogliome.

Sujet n° 13. — Oligodendrogliome.

Sujet n° 17. — Oligodendrogliome anaplasique : hémisphère droit augmenté de volume, déformé par une masse tumorale volumineuse, sans limites précises, envahissant le ventricule latéral.

Sujet n° 18. — Tumeur intracérébrale.

Sujet n° 19. — Tumeur intracérébrale.

Sujet n° 21. — Tumeur intracérébrale non étendue : masse dissociant le corps calleux.

Sujet n° 22. — Masse tumorale, localisée dans la portion centrale de l'hémisphère droit. Cette tumeur étant profondément localisée, la faible importance de la teneur en bore que j'ai trouvée dans ce cerveau peut s'expliquer parce que le prélèvement a pu s'écarter de la zone tumorale.

A la lueur de toutes ces remarques, nous pouvons maintenant procéder par étapes progressives d'interprétation.

a) *Précocité relative des stades tumoraux obtenus.*

Dans notre expérimentation, la première tumeur cérébrale notée l'a été le 116e jour. Et l'expérimentation s'est terminée le 155e, par fin d'utilisation du lot d'animaux qui avaient été soumis depuis 5 mois au traitement par la MNH. Nos dosages ont donc été faits sur des *tumeurs jeunes.*

Pour bien s'en rendre compte, nous n'avons qu'à rappeler quelques temps d'induction indiqués par les auteurs d'après leurs propres recherches :

— par voie I.V., à partir du 97e jour, selon Schreiber, Jänisch, Schultze et Tausch, — 249 jours, selon Thomas, Sierra et Kersting, — chez les lapins, 252 à 293, selon Jänisch et Schreiber, 399, selon Kleihues et ses collaborateurs, etc.;

— par eau de boisson, 241 + ou — 40 jours, selon Thomas, Sierra et Kersting;

— par tubage gastrique, à partir du 162e jour, selon Stroobandt et Brucher.

Or, dans nos expérimentations, qui ont utilisé le tubage gastrique, comme les précédents, nous avons provoqué des *tumeurs cérébrales décelables dès le 116e jour,* et nous en avons retrouvé les 121e, 135e, 147e et 149e jours, alors que les dits auteurs ne les avaient vu apparaître qu'au 163e.

Cette précocité relative dans nos productions tumorales est un résultat intéressant, dont la cause nous échappe.

b) *Difficulté d'un prélèvement suffisant.*

Dans les cerveaux normaux, nous avions disposé de la totalité de leur matière pour effectuer le dosage spectrographique du bore.

Mais, dans les cerveaux porteurs de tumeurs chez des sujets soumis à la MNH, il n'en est plus de même. Il a fallu en faire deux portions inégales : l'une, aussi réduite que possible, pour le dosage du bore, l'autre, aussi grande que

possible, pour l'examen morphologique et histologique, pour la détermination de la tumeur.

Or il y a un minimum de matière nécessaire pour que le dosage du bore comporte une sécurité.

Dans un cas où notre prélèvement avait été faible, et peut-être réduit encore par de légères pertes en cours d'opérations, un résultat de valeur si faible est apparu qu'il peut surprendre (n° 7). Dans les essais ordinaires, on recommence avec d'autres prises d'essais; mais notre lot de rats après 5 mois de traitement à la MNH était en voie d'épuisement, il n'était plus possible de faire un autre dosage de contrôle.

c) *Difficulté suivant la portion de cerveau où est opéré le prélèvement.*

Malgré toute l'attention apportée, on tranche un peu au hasard dans le cerveau à tumeur, pour en tirer la matière du dosage. On peut même passer par des aires inégales plus ou moins pourvues en bore et correspondant à des aires moyennes, non enrichies en cette substance par le comportement tumoral.

Il semble que les valeurs de bore trouvées dans le cadre des moyennes normales pourraient entrer dans ce cas particulier.

d) *Valeurs élevées en bore observées dans les tumeurs.*

Si nous venons de reconnaître les difficultés que suggèrent quelques valeurs faibles, que nous avons scrupuleusement conservées, il est incontestable que *des valeurs en bore plus élevées que celles dans les sujets normaux coïncident avec l'état tumoral.* Sur ce point, nous avons réalisé une valeur de 42,5 et surtout *quatre valeurs de 80 à 84*, qui évidemment sont la *conséquence d'une plus grande réceptivité des tumeurs.*

Les rapports entre ces valeurs dans la tumeur et celles dans le cerveau normal paraissent un peu plus faibles que ceux indiqués par Soloway et d'autres auteurs.

Peut-être, les tumeurs que nous avons obtenues étaient précoces, sont moins développées, moins évoluées, ce qui pourrait avoir quelques influence sur leur taux de réceptivité. Peut-être, s'agit-il plutôt du nombre relativement petit des sujets dont nous disposions à la fin, au moment voulu pour l'injection du métatolylboronate, ce qui ne nous a guère permis d'intervenir sur les variations dues aux échéances : Soloway n'a-t-il pas montré que, avec le temps, selon l'échelonnement des échéances, le rapport en bore entre la tumeur

et le cerveau normal peut même s'inverser (après l'échéance de 3 heures) ?

Le nombre de sujets à expérimenter doit donc être extrêmement grand, pour être absolument significatif. Tous nos essais n'en constituent pas moins une base pour des développements ultérieurs d'expérimentations.

La Pharmacodynamie a rempli ainsi son rôle logique. L'étude des tumeurs obtenues passe dans le domaine de l'Anatomie pathologique.

***

Peut-être peut-on envisager l'hypothèse d'une fixation du bore plus prompte à s'accomplir dans le tissu néoplasique que dans le tissu sain, — ce fait étant lié à une vascularisation plus dense : à ce stade, la tumeur cérébrale fixe en apparence plus de bore que le tissu cérébral normal.

Puis la défixation s'accomplit, d'autant plus vite que le sang permet un drainage plus actif. Dans cette hypothèse peut s'expliquer l'appauvrissement en bore plus rapide pour le tissu néoplasique que pour le tissu sain, moins vascularisé.

Cette hypothèsc n'est qu'une tentative d'interprétation. Si elle venait à se vérifier, elle confirmerait la nécessité de l'irradiation neutronique très précoce survenant immédiatement après l'administration de l'organoborique, dans le traitement des néoplasmes cérébraux suivant les vues de Soloway.

CINQUIÈME PARTIE

BORE ORGANIQUE ET LYMPHE

SOMMAIRE DES CHAPITRES DE LA CINQUIÈME PARTIE

Chapitre I :

Diffusion du bore dans la lymphe.

Chapitre I

DIFFUSION DU BORE DANS LA LYMPHE

D'une part, les composés du bore qui pénètrent le plus facilement dans le cerveau semblent être ceux qui ont une solubibilité lipidique effective, ceux qui se concentrent dans le solvant lipidique, le benzène.

D'autre part, la lymphe est un « sang blanc » riche en lipides et pouvant en recevoir de grandes quantités : au moment de la digestion, elle renferme beaucoup de graisse, en telle abondance qu'elle en prend un aspect lactescent.

Ce rapprochement nous a engagé à rechercher si la lymphe n'offrirait pas aux acides tolylboroniques un régime particulier d'accueil pour une localisation du bore, régime qu'il sera toujours intéressant de comparer à celui de la localisation dans le sang.

La difficulté consiste ici dans l'obtention de la lymphe, qui demande une grande dextérité : car la ponction du canal thoracique est une opération quelque peu délicate, minutieuse.

Technique par canulation du canal thoracique abdominal.

Le prélèvement de la lymphe dans le canal thoracique abdominal exige une attention chirurgicale; car ce canal, très fragile, se déchire à la moindre maladresse.

Bollman préconisa, pour la première fois, une méthode de prélèvement par canulation dans ce canal. Gallo-Torres et Neal Miller (1969) l'ont perfectionnée et c'est leur manière d'opérer que nous avons suivie dans nos expérimentations.

Une première partie de la méthode de ces auteurs concerne la canulation elle-même et le prélèvement de la lymphe.

Incision. — On étend l'animal, préalablement anesthésié, de manière à ce que l'abdomen soit devant l'opérateur et la tête à l'opposé.

Ouvrons l'abdomen par une incision centrale au-dessous du xiphisternum.

Pour éviter une déshydratation viscérale, des tampons de gaze sont appliqués, après avoir été imbibés de sérum physiologique normal.

On localise l'emplacement du canal thoracique, en se référant au trajet de l'aorte le plus voisin du rein gauche. Ce canal se laisse découvrir, tout à côté de la citerne de Pecquet (réservoir où convergent cinq ou six gros troncs venant des ganglions abdominaux).

Dégagement. — La technique nous amène alors à dégager ce canal.

Commençons à ouvrir la cavité rétro-péritonéale avec un petit forceps à bout rond. On sort l'aorte de sa partie abdominale, en position distale par rapport au diaphragme.

Le canal thoracique se recherche à la loupe. Nous ne pouvons utiliser le critère que Gallo-Torres et Neal Miller nous donnent pour le reconnaître, celui de la coloration blanche de ce canal, quand l'animal a reçu, une heure avant l'opération, un repas à base de lipides : car les animaux que nous traiterons seront à jeun depuis 24 heures. Par rapport à l'aorte abdominale, ce canal thoracique est dorsal, un peu vers la gauche.

Sans le toucher, on finit par dégager ce canal de sa gaine de tissu conjonctif peu cohérent et de graisse, sur une longueur de 8 à 10 mm, à l'aide d'un petit forceps fin. Opération facilitée, si on a la précaution de passer des fils autour de l'aorte, pour la tirer un peu de côté.

Cathétérisme. — On prend une canule, longue de 30 cm, recourbée en crochet à une quinzaine de cm d'une extrémité qui est coupée en biseau pour former pointe de canule.

Sa mise en place se fait par une ouverture qu'on établit dans la paroi verticale du canal thoracique, sur le trajet où celui-ci a été précédemment dégagé : la pénétration est possible, grâce à la petite extrémité biseautée de la canule.

Cette canule est alors engagée dans le canal, de 9 à 12 mm, distalement. La lymphe commence à s'écouler immédiatement.

Fixation de la canule. — Une fine bretelle de scotch (ou, avec une pipette, une très petite quantité de colle spéciale) est placée à la partie recourbée de la canule, pour la fixer le long du canal thoracique; par une autre petite bretelle de scotch, on consolide le point de pénétration de la canule dans le canal. Quand l'animal doit être sacrifié (nous n'avions pas à le maintenir après l'opération), nous pouvons employer des scotchs ou autres produits similaires. On recouvre la colle avec un peu de gaze.

La deuxième partie de la méthode de Gallo-Torres et Neal Miller, qui concerne la régularisation du débit de la lymphe par perfusion de sérum physiologique, dispose dans la partie supérieure du canal cholédoque un cathéter, pour recueillir la bile pure, et un autre comme canule pour assurer la perfusion. Technique très importante pour l'étude des rapports entre la vitesse de perfusion du sérum physiologique et la vitesse de production de la lymphe; mais, étrangère à nos recherches sur la localisation du bore, nous la laissons de côté.

Mode opératoire.

Nous avons opéré, comme toujours, sur des rats Wistar A.G., mis à jeun depuis 24 heures. Pour obtenir le plus de lymphe possible, nous avons choisi des sujets de forte taille, mâles, de 400 à 500 g chacun.

Nous commençons par anesthésier le sujet, en utilisant l'uréthane, en solution à 50 %, à la dose de 0,25 ml/100 g de poids du corps, par voie intrapéritonéale.

On lui injecte, peu après, le tolylboronate d'expérimentation, comme d'ordinaire, en solution à 2 % dans le sérum physiologique, à la dose de 0,2 g/kg et par voie intrapéritonéale.

Le moment est alors venu d'appliquer au sujet la méthode de Gallo-Torres et Neal Miller, que nous venons d'exposer, pour le prélèvement de la lymphe.

Comme la lymphe est assez longue à s'écouler, on ne peut guère la fragmenter en fractions correspondant à des échéances rigoureuses de temps après l'administration, mais s'étendant sur des moments d'une certaine durée.

Dans les prélèvements successifs, le bore sera dosé de la manière habituelle.

Le problème s'était posé, au point de vue technique, de savoir si l'injection initiale du tolylboronique devait précéder ou suivre celle de l'anesthésique. Nous avions essayé la formule : tolylboronique d'abord, anesthésique un peu après; mais l'animal devient, dès les premiers moments, si inerte que le corps semble trop passif et que l'écoulement de la lymphe en est ultérieurement ralenti, ce qui déclenche une difficulté supplémentaire pour obtenir ce liquide. Aussi nous sommes-nous rallié à l'autre formule : anesthésique d'abord, puis tolylboronique, ce qui a permis l'écoulement convenable de la lymphe et est aussi plus commode pour compter le départ des échéances.

Enfin, il faut tenir compte de ce que l'opération est délicate; l'écoulement et la fluidité de la lymphe varient un peu, certains

sujets supportent mal à la fois l'anesthésie et la piqûre, et un certain nombre succombe au cours de l'expérimentation. On doit donc prévoir un plus grand nombre de sujets et se borner à enregistrer avec soin les résultats sur ceux qui subsistent jusqu'à la fin.

Résultats des expérimentations.

Nous disposerons les résultats à peu près dans l'ordre des échéances des prélèvements qu'ils concernent.

VALEUR DES PRÉLÈVEMENTS DE LYMPHE A DIVERSES ÉCHÉANCES
(anesthésie à l'uréthane 50 % à la dose de 0,25 ml/100 g).

N° du prélèvement	Poids du sujet en g.	Durée du prélèvement	Echéance du prélèvement après l'injection du tolylboronate	Volume de lymphe recueilli en ml
Sujets témoins non traités :				
1	400		1 h 12	0,5
2	435		1 h	0,5
3	440		1 h	0,6
Sujets traités par l'orthotolylboronate (à 2 % dans sérum physiologique, — dose 0,2 g/kg, I.P.) :				
4	460	22 mn	de 23 mn à 55 mn	0,4
5	(2e prélèv. sur n° 4)	34 mn	de 56 mn à 1 h 30	0,3
Sujets traités par le métatolylboronate (à 2 % dans sérum physiologique, — dose 0,2 g/kg, I.P.) :				
6	450	24 mn	de 1 mn à 24 mn	0,3 ml
7	380	12 mn	de 63 mn à 75 mn	0,2
8	440	42 mn	de 50 mn à 91 mn	0,3
9	470	1 h	de 45 mn à 1 h 45	0,3
10	440	43 mn	de 1 h 21 à 2 h 4	0,2
11	440	20 mn	de 1 h 55 à 2 h 15	0,2
12	410	21 mn	de 1 h 46 à 2 h 07	0,3
13	(2e prélèv. sur n° 8)	1 h 05	de 1 h 32 à 2 h 37	0,4
14	500	36 mn	de 6 h 21 à 6 h 57	0,4
15	(2e prélèv. sur n° 14)	57 mn	de 6 h 57 à 7 h 54	0,4
16	480		à 18 h	0,3
17	510		à 24 h	0,4

Sujets traités par le paratolylboronate
(à 2 % dans sérum physiologique, — dose 0,2 g/kg, I.P.) :

18	460	40 mn	de	1 h 30	à	2 h 10	0,2
19	250	1 h 10	de	0 h 03	à	1 h 13	0,2
20	310	1 h	de	1 h	à	2 h	0,2
21	510	1 h 10	de	1 h 40	à	2 h 50	0,5
22	350	50 mn	de	4 h 40	à	5 h 30	0,3
23	470	50 mn	de	16 h 10	à	17 h	0,3
24	530	1 h 05	de	17 h 25	à	18 h 30	0,3
25	420	1 h	de	19 h	à	20 h	0,2
26	520	1 h 10	de	23 h 50	à	25 h	0,4

On voit que l'écoulement de la lymphe n'est ni abondant, ni rapide et se trouve lié à un rythme commandé par des facteurs individuels : plus ou moins de viscosité, plus ou moins de pression. La lymphe est un milieu qui présente dans son sein quelques différences selon les sujets, le moment, la position dans le complexe lymphatique (Polonowski et coll., 1968).

Le volume recueilli est assez faible, comme c'est normal chez un animal de faible taille et où le canal lymphatique est minime. Il ne semble pas grandement affecté par un allongement de la durée du prélèvement qui, plutôt, doit s'arrêter quand la pression interne a atteint un certain degré, ou bien quand, dans la portion de canal vidée, les actions moléculaires contre les parois ralentissent la circulation de nouvelles fractions du liquide.

TENEUR DE LA LYMPHE EN BORE SELON LES ÉCHÉANCES DES PRÉLÈVEMENTS
(dosage en µg B/ml).

Sujets témoins non traités :

Echéance	1 h	0

Sujets traités par l'orthotolylboronate :

Echéance	50 mn	9,0
»	1 h	7,5

Sujets traités par le métatolylboronate :

Echéance	25 mn	4,40
»	65 mn	4,60
»	90 mn	4,70
»	1 h 45	5,75
»	2 h 05	5,5
»	2 h 15	5,75
»	2 h 37	14,0
»	7 h	2,50
»	8 h	3,10
»	18 h	traces
»	24 h	0

Sujets traités par le paratolylboronate :

Echéance	40 mn	6,25
»	1 h 10	6,0
»	2 h	6,75
»	2 h 50	6,50
»	5 h 30	3,6
»	17 h	2,4
»	18 h	traces
»	20 h	traces
»	24 h	traces
»	25 h	traces

Ces résultats sont faciles à embrasser (fig. 15).

L'orthotolylboronate donne dans la lymphe un taux de bore fort élevé dès l'abord (aux environs de 9), mais qui décroît assez vite. On sait que l'expérience ne peut être prolongée au-delà de 1 h, car les animaux meurent.

Avec le métatolylboronate, les taux de bore sont importants dès le début; ils atteignent leur maximum vers les échéances de 2 ou 3 h, décroissent rapidement jusque vers celles de 7 ou 8 h : ils ne se traduisent plus que par des traces jusqu'à 18 h après l'injection initiale.

Quant au paratolylboronate, la teneur de la lymphe en bore se tient assez élevée (autour de 6 à 7) jusqu'à l'échéance de 3 h, puis s'abaisse jusqu'à celle de 17 h, après laquelle on ne décèle plus que des traces infimes.

Si l'on compare entre eux les trois isomères quant aux proportions de bore qu'ils font passer dans la lymphe, on constate que leurs actions sont assez semblables : on n'enregistre pas de différences majeures dans l'ordre d'importance des valeurs chiffrées obtenues.

Comportement de la lymphe comparé a celui du sang.

Pour comparer avec les teneurs dans le sang après l'administration des tolylboronates, on peut se reporter aux dosages dans le sang, dont nous avons donné des résultats à propos du liquide céphalo-rachidien et d'autres à propos du cerveau. Il ne s'agira donc plus ici de dosages effectués sur les sujets mêmes où a été prélevée la lymphe, mais de moyennes, obtenues sur des sujets tout différents, bien entendu, de conditions identiques.

Ces moyennes dans le sang sont, comme ailleurs, rappelées ici en μg B/ml :

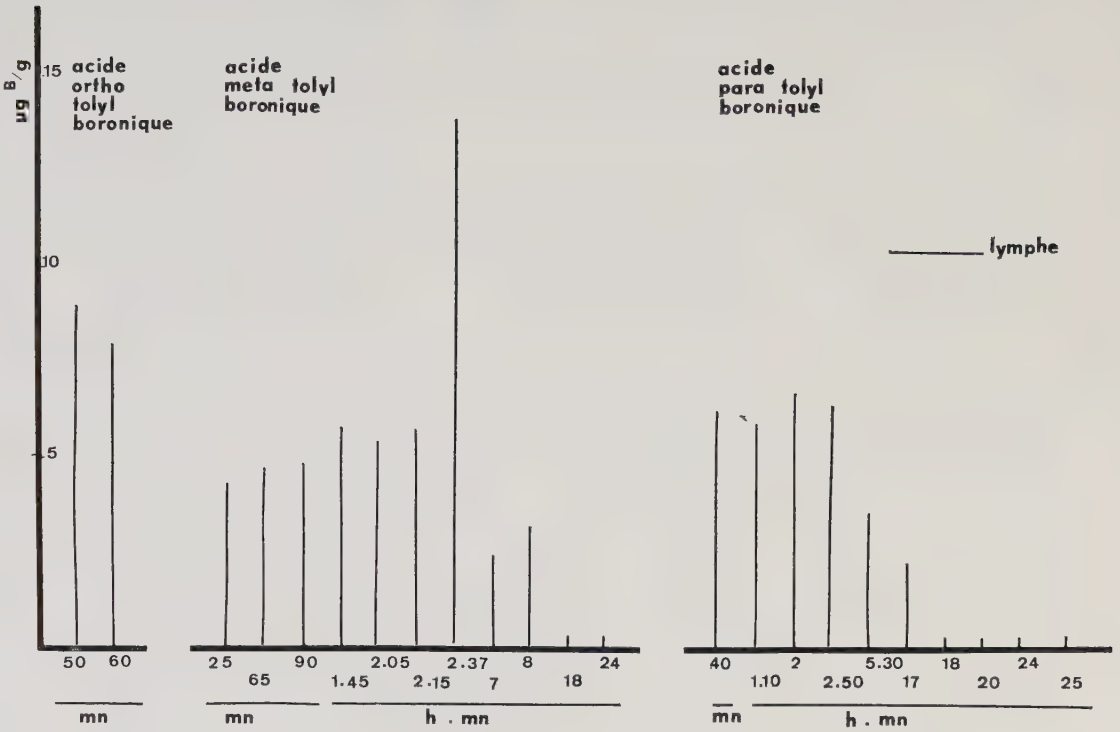


FIG. 15. — *Evolution de la localisation du bore dans la lymphe, pour chacun des trois acides o, m, p. tolyl-boroniques.*

En abscisses, les échéances de temps après l'administration. En ordonnées, la teneur en µg B/g.

— Acide orthotolylboronique. — Echéance de 50 mn : 11; échéance 1 h : 9;

— Acide metatolylboronique. — Echéance 25 mn : 7,5; éch. 65 mn : 19,5; éch. 1 h 45 : 20; éch. 2 h : 21; éch. 7 h : 11; éch. 8 h : 9,6; éch. 18 h : 3,9; éch. 24 h : traces;

— Acide paratolylboronique. — Echéance 40 mn : 12.

Si nous confrontons les valeurs obtenues sur la lymphe avec celles que nous venons de rappeler sur le sang, les conclusions sont fort nettes.

En ce qui concerne l'orthotolylboronique, après son administration, le bore passe dans la lymphe, en teneur un peu plus faible que dans le sang, mais sensiblement de même ordre.

En ce qui concerne le metatolylboronique :

a) La teneur dans la lymphe atteint son maximum vers l'échéance de 2 ou 3 h, — un peu plus tard que dans le sang où ce maximum était atteint dès l'échéance de 1 h;

b) Cette teneur décroît alors, plus vite que dans le sang, puisqu'après 18 h, la lymphe n'en a plus trace, alors qu'il en reste une quantité notable dans le sang;

c) D'une manière générale, la teneur en bore dans la lymphe est toujours inférieure à celle dans le sang : suivant les échéances, elle vaut entre le quart et la moitié de celle du sang.

En ce qui concerne le paratolylboronique, la teneur du bore dans la lymphe est la moitié de celle du sang.

Nos expérimentations en ce qui concerne la lymphe semblent donc montrer qu'elle ne constitue pas, par rapport au sang, un milieu favorable à une sélectivité particulière du bore.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Avant de clore ces pages, qui résultent d'expérimentations assez longues et ont brassé bien des notions, on désire dégager quelques vues sur les faits les plus importants qui en émergent.

I. - D'abord le choix de l'organoborique à engager impliquait de préciser sa toxicité. Nous avons déterminé celle de l'acide métatolylboronique, qui est le moins toxique et le plus maniable des trois isomères ortho-para-meta.

II. - Dans les rapports du bore avec le système nerveux central, le liquide céphalo-rachidien était à envisager en premier lieu. A l'état normal, le bore du métatolylboronate de sodium n'y pénètre pas. La barrière hémato-encéphalique semble être efficace : de ce fait, une double interprétation s'offre, soit refus du bore d'entrer dans ce liquide, soit refus de ce liquide à retenir le bore.

— Des réflexions, sur tout ce qui a été écrit, quelquefois contradictoirement, de cette barrière, nous ont donné l'idée d'envisager un rôle éventuel de la gestation, comme facteur modificateur — ce qui nous a amené à expérimenter sur des rattes gestantes.

Nous avons constaté alors que le bore, qui ne passe pas dans le L.C.R. à l'état normal, s'y retrouve dès le début de la gestation, y atteint vers le 5^{e} ou le 6^{e} jour une teneur de 4,7 à 7 μg B/ml, parvient vers la fin au 20^{e} jour à un maximum de l'ordre de 9,1 μg. Mais, dès la délivrance, on ne peut plus l'y retrouver.

III. - Ce résultat apparaissait intéressant : il était donc indispensable de le confirmer sur une autre espèce, ou bien d'en infirmer toute généralisation possible.

Les expérimentations ont été alors recommencées sur le lapin, mâle et femelle normale. Après l'injection habituelle de métatolylboronate de sodium, le bore ne se laisse pas déceler dans le L.C.R. Comme dans le cas des rats normaux, la barrière est efficace.

— Il convenait alors d'opérer sur des lapines gestantes. En période de gestation, le bore du métatolylboronate passe dans le L.C.R. On l'y décèle à une teneur de 2 à 3,5 μg B/ml, qui

subsiste assez peu variable durant cette période. Et. dès la mise-bas, on n'y en retrouve plus trace.

Quelques détails de comportement vis-à-vis de celui de la ratte gestante : chez les lapines la réceptivité du L.C.R. en bore est deux fois moindre; et la teneur en bore y varie dans des intervalles plus réduits.

Le fait est donc bien vérifié : l'état de gestation modifie le rôle de la barrière hémato-encéphalique et permet la pénétration du bore du metatolylboronate de sodium dans le L.C.R. Sans doute, des facteurs endocrines président à la perméabilité hémato-méningée.

IV. - Après le L.C.R., nous sommes parvenus aux rapports avec le cerveau et, comparativement, avec le sang. Les injections de métatolylboronate de sodium sont suivies d'introduction du bore dans ces deux organes. Il s'y retrouve alors à des échéances momentanées. Deux phases de fixation maximale s'y observent, la première dans un délai de 15 mn, la deuxième entre la 15e et la 30e mn : les teneurs se maintiennent plus ou moins jusque vers l'échéance de 4 h, puis disparaissent aux échéances ultérieures.

V. - Il fallait déterminer en quelles parties du cerveau le bore se localisait à l'échelle subcellulaire, celle de la composition corpusculaire. Après transformation en homogénats et ultracentrifugations successives, nous avons constaté que le bore des tolylboronates se loge dans les sédiments 1 et surtout 2, en peu de cas encore dans le sédiment 3, mais plus du tout dans le sédiment 4, ni dans le surnageant 4. C'est dire que le bore semble être retenu par les corpuscules relativement gros et moins par les particules les plus fines.

VI. - Nous avons été conduit, par nos essais, à doser dans le cerveau un bore à l'état oligoélémentaire normal, mais passager et fluctuant. Après l'injection des tolylboroniques, le bore d'appoint y parvient très vite, mais une partie de la molécule qui le supporte se transforme promptement en métabolites, qui sont l'acide métacarboxyphénylboronique et l'acide borique. Le tout finit par s'éliminer complètement, si bien que dans le cas de l'injection unique on n'a à considérer aucune forme d'accumulation permanente ni même simplement durable.

— Par comparaison, le métabolisme du métatolylboronate dans le sang ne connaît guère que la dégradation en acide borique, qui se manifeste comme dernier déchet témoin. Nous n'y avons pas décelé la présence du carboxyphénylboronique; le milieu sanguin ne doit pas convenir à sa formation.

VII. - Les tumeurs expérimentales, dont nous avons déterminé la formation chez le rat par notre longue expérimentation à la méthylnitroso-urée, sont de types histologiques et de localisations anatomiques variables.

Dans les néoplasmes cérébraux obtenus, après administration du métatolylboronate de sodium, la fixation du bore est rapide et le taux obtenu dépasse nettement celui réalisé dans le tissu sain. Puis une inversion de rapport paraît se réaliser.

Il a été donné d'observer dans des néoplasmes cérébraux du rat une concentration en bore 4 fois supérieure à celle réalisée dans le tissu cérébral sain.

Cet aspect du problème pharmacodynamique, que pose le recours à l'acide métatolylboronique, peut avoir une signification pratique importante dans la recherche du manuel opératoire le plus efficace qu'appelle le traitement des tumeurs cérébrales par la méthode de Soloway.

VIII. - Pour terminer le cercle des liquides organiques susceptibles d'être intéressants pour la localisation du bore, nous avons opéré sur la lymphe, dont la réceptivité s'est révélée, contrairement à ce qu'on aurait pu penser, inférieure à celle du sang.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Références auxquelles le texte renvoye par la mise entre parenthèses de la date du travail, après le nom d'auteur, soit : Soloway (1958), Soloway... (1958), (Soloway 1958).

Nous indiquons, en sus, une trentaine de travaux qui nous ont été indispensables pour approfondir les variations physiologiques (notamment suivant les moments) et le comportement de la barrière hémato-encéphalique : chapitres que l'on pourrait considérer un peu en marge, non de nos recherches, mais de l'unité de notre plan.

Quelques titres entre crochets sont des traductions françaises de titres étrangers.

Adler (S.). 1948. Origin of the golden hamster Mesocricetus auratus as a laboratory animal. *Nature*, t. 162, n° 4, pp. 256-257.

Alexander (L.). 1939. A note on the differential diagnosis of expementally produced brain tumors and their relation to brain tumors in man. *The american Journal of Cancer*, t. 37, pp. 395-399.

Anderson (N.G.). 1966. Zonal centrifuges and other separation systems. New methods are being developed at oak ridge for fractionating human cells. *Science*, t. 154, pp. 103-112.

Arbus (L.). Contribution à l'étude des phospholipides de l'encéphale. 1964. *Thèse Médec. Toulouse*, 166 p., impr. Pezous, Albi.

Arnold (H.) et Zimmerman (H.M.). 1943. Experimental brain tumors. III. Tumors produced with dibenzanthracene. *Cancer Research*, t. 3, pp. 682-685.

Babusikova (C.). 1969. Comparative studies of gliomas in vitro and in vivo. *Neoplasma*, t. 16, n° 6, pp. 633-644.

Bailey (P.). 1948. Intracranial tumors. Second edition. 478 p., 16 pl., Thomas, Springfield U.S.A.

Bean et Johnson. 1932. Derivatives of phenylboric, their preparation and action upon bacteria. II hydroxyphenyl boric acids. *Journal americ. chem. Society*, t. 54, pp. 4415-4425.

Benassy (R.). 1946. Contributions à l'étude des tumeurs cérébrales dans leur rapport avec la puerpéralité. *Thèse Médec. Lyon.*

Benda. 1925. Ueber den einfluss der menstruation auf die permeabilität der meningen. *Münchn. med. Wochenschrift*, n° 78.

Ben Menahem (M.). 1934. Notes sur l'élevage du hamster. *Archiv. Institut. Pasteur Alger*, t. 12, pp. 403-407.

Bernhard (W.). 1961. Elektronenmikroskopischer beitrag zum studium der kanzerrisierung und der malignen zustände der zelle. *Verhandlung. deutsche Gesellsc. Pathol.*, t. 45, pp. 8-37.

Bernstein (N.O.). 1933. Les données actuelles sur le liquide cephalo-rachidien. *Thèse Médec. Strasbourg*, 63 p.

Bigelon. Synthèses organiques (traduction française). Cf. vol. collectif I, pp. 177-178.

Biran (L.A.) et Bartley (W.). 1961. Distribution of fatty acids in lipids of rat brain, brain mitochondria and microsomes. *Biochemical Journal*, t. 79, pp. 159-176.

Bittencourt (M.). 1952. Tumeur cérébrale et grossesse. *Rev. franç. de Gynécol. et d'Obstétr.*, t. 46, n° 5, pp. 729-736.

Bonnell-Pène (A.M.). 1969. Contribution à l'étude du métabolisme des acides arylboroniques chez le rat. *Thèse Pharm. (Etat) Toulouse*, 168 p. (+ pl. et tabl.).

Brehm (A.E.). 1878. Merveilles de la nature : l'homme et les animaux. Edition franç. revue par Z. Gerbe. 9 vol. in-4°, Baillière, Paris. Cf. t. 2, p. 103.

Brodie (B.B.). 1964. Difficultés de transposer à l'homme les résultats expérimentaux obtenus sur l'animal. *Act. Pharmacol.*, 17° sér., 1.

Broustail (M.). 1951. La souris de laboratoire et son élevage. 72 p., Vigot, Paris. Cf. p. 10.

Brown (J.M.) et Goffinet (D.R.). 1970. A techniques for intra arterial infusion of tumor bearing mice. *J. lab. Clin. med.*, t. 76, n° 1, pp. 175-180.

Burton (J.L.), Cunliffe (W.J.), Millar (D.G.) et Sam Shuster. 1970. Effect of pregnancy on sebum excretion. *British medical Journal*, t. 2 de l'année, n° 5 712, pp. 769-771.

Busch (H.). 1967. Methods in cancer research. Vol. I. Methods in transplantation of tumors. XVI et 612 p. Academ. Press, New York.

Caputo (A.) et Giovanella (B.). 1965. Produzione sperimentale di tumori cerebrali nel ratto. Archiv. ital. Anat. pathol., t. 29, n° 6, pp. 467-497.

Carpentier (C.J.). 1950. Le rat blanc. *Ucla'ilm*, organe mensuel des usines chim. des labor. franç., 45, 46, 47.

Caujolle (D.), Caujolle (F.), Dang Quoc Quan et Dousset (Gh.). 1969. Sur la toxicité de l'acide métatolylboronique. *Toulouse pharmaceutique*, t. 16, pp. 153-156.

Caujolle (D.) et Dousset (Gh.). 1971. Sur la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique : non-diffusion de l'acide borique et des acides tolylboroniques dans le liquide céphalo-rachidien du rat. Soc. Pharmac. Toulouse, séance du 11 février 1971. *Toulouse pharmaceutique*, t. 17.

Caujolle (F.). 1951. Le bore en thérapeutique. *Produits pharmaceutiques*, t. 6, n° 3 (mars), pp. 117-124 (conférence n° 2366 du Centre de perfectionnement technique le 9 juin 1950).

Caujolle (F.), Caujolle (D.), Dang Quoc Quan et Dousset (Gh.). 1970. Sur la toxicité du metatolylboronate de sodium pour la souris. *Annales pharmaceut. franç.*, t. 28, n° 4, p. 330.

Caujolle (F.), Caujolle (D.) et Dousset (Gh.). 1970. Localisations cérébrales comparées du bore, chez le rat, après administration des acides toyllboroniques. *C.R. Soc. Biol.*, t. 164, n° 5, pp. 1142-1145.

Caujolle (F.) et Dousset (Gh.). 1971. Diffusion de l'acide borique et des acides tolylboroniques dans le liquide céphalo-rachidien de rattes. Soc. Pharmac. Toulouse, séance du 25 février 1971. *Toulouse pharmaceutique*, t. 17.

Caujolle (F.), Fauran (F.), Dang Quoc Quan et Bonnell (A.M.). 1970. Métabolisme des acides arylboroniques chez le rat. *C. R. Ac. Sc.* (Paris), t. 270, pp. 1529-1531.

Caujolle (F.) et Gayrel (P.). 1955. Répatition du bore après injection d'acide phénylborique chez le chien. *C. R. Ac. Sc.* (Paris), t. 240, pp. 1374-1376.

Caujolle (F.), Gout (R.) et Lavaur (P.). 1960. Sur la toxicité de l'acide paratolylborique pour le rat. *Toulouse pharmaceutique*, t. 7, n° 1, pp. 32-33.

Caujolle (F.), Gout-Tarbouriech (Y.) et Gout (R.). 1959. Sur la toxicité des acides ortho et paratolylboriques. *Toulouse pharmaceutique*, t. 6, n° 2, pp. 2-7.

Caujolle (F.), Gout-Tarbouriech (Y.) et Gout (R.). 1959. Toxicité comparée de l'acide borique et de quelques acides arylboriques pour le rat et la souris. *C. R. Ac. Sc.* (Paris), t. 248, pp. 751-753.

Caujolle (F.) et Meynier (D.). 1957. L'indice d'agressivité (DL 50 limite). *Bull. Acad. Médec.*, t. 17, p. 362.

Cestan, Laborde et Riser. 1925. La perméabilité méningée n'est qu'un des modes de la perméabilité vasculaire : contribution à l'étude de la barrière hémato-encéphalique. *Presse médicale*, t. 33, pp. 1330-1334.

Cestan, Riser et Laborde. 1923. Le liquide ventriculaire : physiologie des ventricules cérébraux chez l'homme. *Annal. de Médec.*, p. 289.

Chakova (I.K.). 1961. [Distribution du bore par fractions dans les tissus de cerveau et de foie.] *Biokhimiya SSSR*, t. 26, p. 121, 315-318.

Charlwood (P.A.). 1966. Density-gradient separations in the ultracentrifuge. *British medical Bulletin*, t. 22, n° 2, pp. 121-126.

Cooper (A.H.). 1966. Applications of the technique of zonal centrifugation. Publ. de Measuring et scientific Equipement Ltd, London, 4 p.

Corbett (J.R.). 1966. Zonal centrifugation. Publ. de Measuring et scientific Equipement Ltd, London, 8 p.

Courtois (J.E.) et Perles (E.). 1960. Précis de chimie biologique. Cf. t. 2, pp. 595-599.

Cros-Bonnemaison (S.). 1970. Contribution à l'étude expérimentale de l'activité toxique et tératogène du diméthylsulfoxyde à l'égard de l'embryon de poulet. *Thèse Sc. nat. Toulouse,* 148 p. in-4°.

Dalton (A.J.) et Felix (M.D.). 1956. The electron microscopy of normal and malignant cells. *Annals of the New York Academy of Sciences,* t. 63, pp. 1117-1140.

Daniel (M.). 1932. Contribution à l'étude de la perméabilité hémoméningée chez l'homme normal. *Thèse Médec. Lyon,* 85 p.

Daniel, Crainiciana et Mayrodin. 1932. Contribution à l'étude des hormones du liquide céphalo-rachidien. *C. R. Soc. Biol.,* t. 110, p. 1139.

Dimant (In.), Israilyan (A.A.), Loktiónov (G.M.). et Sataev (M.M.). 1968. [Methylnitrosourea in the induction of brain tumors.] *Byull. Eksp. Biol. med.,* t. 65, pp. 98-100.

Divry (P.) et Bobon (J.). 1949. Tumeurs encéphaliques et gravidité. *Acta neurologica belg.,* t. 49, pp. 54-80.

Documents Geigy. 1963. Tables scientifiques. 6° édition .Cf p. 613.

Dousset (Gh.). 1971. Pénétration du bore organique dans le liquide céphalo-rachidien de la ratte gestante. Soc. Biol., section de Toulouse, séance du 26 mars 1971. *C. R. Soc. Biol.*

Druckrey (H.), Ivankovic (S.), Mennel (H.D.) et Preussmann (R.). 1964. Selektive erzeugung von carcinomen der nasenhöhle bei ratten durch N, N'-di-nitrosopiperazin, nitrosopiperidin, nitrosomorpholin, methyl-allyl-, dimethyl-und methyl-vinyl-nitrosamin. *Z. Krebsforschung,* t. 66, n° 2, pp. 138-150.

Druckrey (H.), Ivankovic (S.) et Preussmann (R.). 1964. Selektive erzeugung von hirntumoren bei ratten durch methylnitrosoharnstoff. *Die Naturwissenchaften,* t. 51, n° 6, p. 144.

Druckrey (H.), Ivankovic (S.) et Preussmann (R.). 1965. Selektive erzeugung maligner tumoren im gehirn und rückenmark von ratten durch N-methyl-N-nitrosoharnstoff. *Z. Krebsforchung,* t. 66, n° 5, pp. 389-408.

Druckrey (H.), Ivankovic (S.) et Preussmann (R.). 1966. Teratogenic and carcinogenic effects in the offspring after single injection of ethylnitrosourea in pregnant rats. *Nature* (London), t. 210, pp. 1378-1379.

Druckrey (H.), Ivankovic (S.) et Preussmann (R.). 1967. Neurotrope carcinogene wirkung von phenyl-dimethyl-triazen an ratten. *Die Naturwissenschaften,* t. 54, p. 171.

Druckrey (H.), Ivankovic (S.) et Preussmann (R.). 1970. Selektive erzeugung von carcinomen des drüsenmajens bei ratten durch orale gabe von N-methyl-N-nitroso-N'-acetylharnstoff (Ac MNH). *Z. Krebsforschung,* t. 75, n° 1, pp. 23-33.

Druckrey (H.), Preussmann (R.), Ivankovic (S.) et Schmähl (D.). 1967. Organotrope carcinogene wirkungen bei 65 verschiedenen N-nitroso-verbindungen an BD ratten. *Z. Krebsforschung,* t. 69, pp. 103-201.

Druckrey (H.), Schmähl (D.) et Dischler (W.). 1963. Dosis wirkungsbeziehungen bei der krebserzeugung durch 4-dimethyl-aminostilben bei ratten. *Z. Krebsforschung,* t. 65, p. 272.

El-Aaser (A.A.), Fitsimons (J.T.R.), Hinton (R.H.), Reid (E.), Klucis (E.) et Alexander (P.). 1966. Zonal centrifugation of crude nuclean fractions from rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta* (Amsterdam), t. 127, pp. 553-556.

Ferenc (J.), Takacs (O.) et coll. 1969. Collapse of the blood-brain barrier in lymphostatic cerebral hemangiopathy and in triethyl tin poisoning. *Med. exp.,* t. 19, n° 6, pp. 342-350.

Ferreli (A.), Coraddu (M.) et Delogu (G.). 1970. Speciali infrastrutture di gliomi humani. *Minerva neurochir.,* t. 14, n° 2-3, pp. 268-279.

Galli (G.), Galli-Kienle (M.), Cattabeni (F.), Fiecchi (A.), Grossi-Paoletti (E.) et Paoletti (R.). 1970. The sterol precursors of cholesterol in normal and tumors tissues. *Adv. enzyme Regul.,* t. 8, pp. 311-321.

Gallo-Torres (H.E.) et Neal Miller (O.). 1969. [Modification de la technique de Bollman de canulation du canal thoracique du rat : standardisation du débit lymphatique.] *Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine,* t. 130, n° 2, pp. 552-555.

Gast (J.H.) et Murray (J.). 1962. Boric acid accumulation in brain after repeated injection. *Federation Proceedings,* t. 21, p. 451.

Gautheron (C.) et Chevallier (F.). 1971. Problèmes posés par la radioautographie à haute résolution du cholestérol tissulaire, cérébral en particulier. *Journal de Microscopie,* t. 10, n° 1, pp. 99-106.

Gellhorn (E.) et Régnier (J.). 1936. La perméabilité en physiologie et en pathologie générale. 928 p. Masson, Paris. Cf. pp. 729-739.

Georges (J.P.). 1969. Facteurs exogènes de la cancérogénèse. *Confrontations* (Revue médic. et scient. Choay), n° 6 (mai-juin), pp. 47-54.

Ghosn (G.), Mohasseb (G.) et Bedrossian (R.). 1969. Tumeurs cérébrales et grossesse. A propos de quatre cas. *Rev. franç. de Gynécol. et d'Obstétr.,* t. 64, n° 7-8, pp. 391-395.

Gilland (O.). 1969. Cerebrospinal fluid. *Progress neurol. Psychiatry* U.S.A., t. 24, chap. 12, pp. 272-291.

Girard. 1930. La fonction de résorption des plexus choroïdes et l'origine du liquide céphalo-rachidien. *Thèse Médec. Nancy.*

Goldmann. 1913. Vitalfarbrung am zentral nervensystem beitrag zur physio-pathologie des plexus choroideus und der hirnhaute. *Abhandlungen der königl. preuss. Akad. der Wissenschaften* (Berlin), n° 1.

Gonnard (P.) et Rodriguez (L.E.A.). 1967. Localisation intracellulaire de la glutamate décarboxylase cérébrale. *Bull. Soc. Chimie biol.,* t. 49, n° 7, pp. 815-823.

Gout (R.). 1968. Recherches pharmacodynamiques sur l'acide borique et certains dérivés arylboroniques. *Thèse Pharm. (Etat) Toulouse,* 306 p.

Gravière (P.). 1939. Essai sur la rupture de la barrière méningo-encéphalique. *Thèse Vétérin. Alfort,* 53 p., Vigot, Paris.

Grossi-Paoletti (E.). 1970. Tumori cerebrali specimintali indutti de azocompositi. *Arch. ital. Patol. clin. tumori,* t. 13, n° 1-2, pp. 3-23.

Grossi-Paoletti (E.), Paoletti (P.), Schiffer (D.) et Fabiani (A.). 1970. Experimental brain tumours induced in rats by nitrosourea derivatives. Part. 2. Morphological aspects of nitrosoethylurea tumours obtained by transplantation induction. *Journal of the neurological Sciences, Amsterdam,* t. 11, n° 6, pp. 573-581.

Halberg (F.). 1960. Temporal coordination of physiologic function in cold spring harbor symposia on quant. Biol. New York Long Island *Biological Association,* t. 25, pp. 289-310.

Halberg (F.). 1963. Circadian (about 24-hours) rythms in experimental medicine. *Proceedings of the royal Society of Medicine,* t. 56, pp. 253-256.

Halberg (F.). 1966. Le pouvoir de résolution des calculateurs électroniques en chronopathologie. Une analogie avec la microscopie. *Scientia,* t. 101, pp. 1-8.

Halberg (F.). 1969. Chronobiology. *Ann. Review of Physiology,* t. 31, pp. 675-725.

Halberg (F.), Halberg (E.), Barnum (C.P.) et Bittner (J.J.). 1959. Physiologic 24-hour periodicity in human beings and mice, the lighting regimen and daily routine in « Photoperiodism and related phenomens in plants and animals ». *Americ. Assoc. Adv. Sc.* (Washington D.C.), n° 55, pp. 803-878.

Hansch (C.), Steward (A.R.) et Iwasa (J.). 1965. [The correlation of localization rates of benzeneboronic acids in brain and tumor tissue with substituent constants.] *Molecular Pharmacology,* t. 1, pp. 87-92.

Hatanaka (H.), Soloway (A.H.) et Sweet (H.). 1967. Incorporation de pyrimidines et d'analogues du bore dans la tumeur cérébrale et le tissu cérébral de souris. Une méthode pour la thérapeutique de capture de neutrons-bore. *Neurochirurgica,* t. 10, n° 3, pp. 87-95.

Heilig et Hoff. 1924. Menstruation und liquor. *Klinische Wochenschrift,* p. 2049.

Homburger (F.) et Treger (A.). 1967. Acceleration of growth of chemically induced tumors by use of transplantation technic. *Cancer Research,* t. 27, n° 3, pp. 1205-1213.

Hopewell (W.) et Wright (E.A.). 1969. The importance of implantation site in cerebral carcinogenesis in rats. *Cancer Research,* t. 27, pp. 1927-1931.

Ivankovic (S.) et Druckrey (H.). 1968. Transplancentare erzeugung maligner tumoren des nervensystems. I. Athyl-nitrosoharnstoff (ANH) and BD IX-ratten. *Z. Krebsforschung.*

Ivankovic (S.), Druckrey (H.) et Preussmann (R.). 1965. Erzeugung von tumoren im peripheren und zentralen nerven system durch trimethyl- nitroso-harnstoff an ratten. *Z. Krebsforschung,* t. 68, n° 6, pp. 541-548.

Jänisch (W.). 1966. Die induktion von experimentellen hirngeschwülsten mit cancerogenen kohlenwasserstoffen. *Z. Krebsforschung,* t. 68, n° 3, pp. 224-233.

Jänisch (W.) et Kirsch (M.). 1967. Tierversuche zur induktion von intracraniellen geschwülsten dur ionisierende strahlen. *Exp. Pathol.* (Jena), t. 1, n° 4, pp. 226-233.

Jänisch (W.), Lageman (A.), Dietz (W.) et Schreiber (D.). 1970. Experimentelle nerventumoren an ratten durch induktion mit N-methyl-N-nitrosoharnstoff. III. Elecktronin mikroskopische befunden. *Exp. Pathol.* (Jena), t. 4, pp. 317-328.

Jänisch (W.) et Schreiber (D.). 1967. Experimentelle hirngeschwülste bei kaninchen nach injektion von methylnitrosoharnstoff. *Die Naturwissenschaften,* t. 54, pp. 171-172.

Jänisch (W.), Schreiber (D.), Stengel (R.) et Steffen (V.). 1967. [Induction expérimentale des tumeurs de cerveau chez le rat par la methylnitrosourée]. *Exp. Pathol.* (Jena), t. 1, n° 5, pp. 243-255.

Jaspersen (H.P.) et Schlumpf (M.). 1969. Acide borique.., oui ou non? *Journal suisse pharmacol.,* t. 107, pp. 560-568.

Jeffers (W.A.) et Griffith (J.Q.), avec assist. de Roberts (E.). 1962. The central nervous system. Cf. pp. 196-202, in : Farris (Edm. J.) et Griffith (J.Q.). 1962. The rat in laboratory investigation. Second edition. 1 vol. 542 p.

Jessen (H.). 1936. Cytologie du liquide céphalo-rachidien normal chez l'homme. Monographie critique et pratique. 168 + 8 p., Levin et Munksgaard, Copenhague, Masson, Paris.

Johnston (J.R.) et Sandborn (L.T.). Synthèses organiques (traduction française). Cf t. 1, pp. 159 et 175.

Johnston (I.R.), Mathias (A.P.), Pennington (F.) et Ridge (D.). 1968. The fractionation of nuclei from mammalian cells by zonal centrifugation. *The biochemical Journal,* t. 109, n° 1, pp. 127-135.

Kawai (S.). 1963. Experimental study of brain tumors. *Transact. Soc. Pathol. Japan,* t. 52, pp. 59-82.

Kersting (G.). 1965. Sui gliomi sperimentali. *Minerva neurochirurgica,* t. 9, pp. 45-51.

Khotinsky (E.) et Melamed (M.). 1090. Die wirkung der magnesium-organischen verbindungen auf die boräureester. *Ber.,* t. 42, p.3090.

Kistler (G.S.). 1970. Zur membranfilter-technik in der cytodiagnostik des liquor cerebrospinalis. *Nervenarzt Deutsch.,* t. 41, n° 10, pp. 507-510.

Kleihues (P.), Zülch (K.J.), Matsumoto (S.) et Radke (U.). 1970. Morphology of malignant gliomas induced in rabbits by systemic application of N-methyl-N-nitrosourea. *Z. neurolog.,* t. 198, n° 1, pp. 65-78.

Kloss (K.). 1958. [Tumeurs cérébrales et grossesse]. *Wiener Zeitschr. Mervenheil,* t. 15, n° 1-4, pp. 229-233.

König (W.) et Scharrnbeck (W.). 1930. Beiträge zur kenntnis der aromatischen borverbindungen und der aus diesen gewinnbaren arylquecksilbersalge. *J. prakt. Chem.,* pp. 128, 153.

Kreybig (Th. Von), Preussmann (R.) et Kreybig (I. Von). 1969. Chemische konstitution und teratogene wirkung bei der ratte. II.

N-alkylharnstoffe, N- alkylsulfonamide, N,N-dialkylacetamide, N-methylthioacetamid, chloracetamid. *Arzneimittel - forschung,* t. 19, n° 7, pp. 1073-1076.

Krüger (P.G.). 1940. Some biological effects of nuclear desintegration products on neoplastic tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* t. 26, pp. 181-192.

Kurz (H.) et Appiah (A.). 1969. Beziehungen zwischen der permeation von arzneimitteln durch die blut-liquor-schranke und ihrer verteilung in verschiedenen lipid/wasser modellen. *Naunyn-Schmiedebergs Archiv. für Pharmakologie,* t. 264, n° 3 ,pp. 264-265.

La Grutta (G.). 1968. Problemi di fisiologia della barriera ematoencefalia. *Acta neurolog.,* t. 23, n°6, pp. 1062-1075.

Lazorthes (G.). 1965. Symposium international sur la circulation cérébrale. *Publication Sandoz.*

Lazorthes (G.). 1970. La circulation cérébrale, bases morphologiques, régulation physiologique. *Publication Sandoz,* pp. 1-20.

Leipold. 1928. Durchlässigkeitsverhältnisse bei der blutliquorschranke. Greifswald.

Lépine (P.), Cadillon (J.) et Chaumont (L.). 1964. Manuel des inoculations et prélèvements chez les animaux de laboratoire. 120 p., Masson, Paris.

Leroux (J.L.). 1964. Le Hamster doré et son élevage. 84 p., Vigot, Paris.

Levin (E.) et collab. 1969. Brain-barrier phenomena. *Brain research,* t. 13, n° 1, pp. 1-12.

Levin (V.A.), Shapiro (W.R.), Clancy (T.P.) et Oliverio (V.T.). 1970. The uptake, distribution and antitumor activity of 1-(2-chloroethyl)-3-cyclohexyl-l-nitrosourea in the murine glioma. *Cancer Research,* t. 30, n° 10, pp. 2451-2455.

Levinson (S.) et Petersen (W.F.). 1927. Alterations in the permeability of skin capillaries during the course of tuberculosis. *Americ. Rev. Tbc,* t. 15, p. 681.

Locksley (H.B.) et Sweet (W.H.). 1954. [Distribution tissulaire des composés du bore par rapport à la thérapeutique du cancer par la capture de neutrons]. *Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine,* t. 86, n° 1, pp. 56-63.

Long (D.M.). 1970. Capillary ultrastructure and the blood brain barrier in human malignant brain tumors. *J. neurosurg.,* t. 32, n° 2, pp. 127-144.

Lucchini (G.). 1962. L'association tumeur cérébrale et grossesse (à propos de six observations). *Thèse Médec. Lyon,* 64 p.

Mahaley (M.S.) et Wilfong (R.F.). 1969. The nature of tetraphenylboron-dissociated brain tumor cells. *Journal of Neurosurgery,* t. 30, pp. 250-259.

Malamud et Fuchs. 1920. Barrier between the blood and the cerebrospinal fluid. *Archivs of Neurology,* p. 280.

Mancuso (T.F.). 1963. Tumors of the central nervous system : industrial considerations. *Acta Un. intern. Cancr.,* t. 19, pp. 488-489.

Marcenac. 1930. Technique des examens de laboratoire employés en clinique vétérinaire. Tome I, in-4°, 246 p., Ecole milit. et d'applic. de cavalerie et du train.

Mariotti (J.A.). 1970. Contribution à l'étude métabolique du cyclohexyl boronate de N. heptyle chez le rat Wistar A.G. *Thèse Univ. (Chimie) Toulouse,* 126 p., impr. coop. Agen.

Measuring and Scientific Equipment Ltd. 1968-1969. Notices publ. sur les rotors et centrifugeurs, n° 473 (centrif. High Speed 18 réfrig.), 481 et 482 (centrif. High Speed 25 réfrig.), 476 A, 487, 495, 496, 666 etc, in-4°. 25-28 Buckingham Gate, London SW 1.

Meierova (R.A.). 1966. [Tumeur du cerveau et grossesse]. *Klin. Med.* (Mosk.), t. 44, n° 7, pp. 78-84.

Mercer (E.H.). 1961. The electron microscopy of normal and neoplastic celles. *Proceedings of the Royal Society of Medicine,* t. 54, pp. 1057-1064.

Mercer (E.H.). 1962. The cancer cell. *British medical Bulletin,* t. 18, pp. 187-192.

Messner (H.) et Trauther (E.M.). 1955. [Inhibition par le borate de la formation d'ammoniac et de la synthèse de la glutamine dans le tissu cérébral]. *Australian Journal of experimental Biology and medical Science,* t. 33, pp. 199-206.

Mestrezat (W.). 1911. Le liquide céphalo-rachidien normal et pathologique. Valeur clinique de l'examen chimique. *Thèse Médec. Montpellier,* 722 p.

Meyer (R. De). 1961. Etude expérimentale de la glycorégulation gravidique et de l'action tératogène des perturbations du métabolisme glucidique. 268 p., Arscia, Bruxelles, Masson, Paris.

Miyake (T.). 1969. Causal relationship between ovarian steroïd secretion and pituitary luteinizing hormone release in the rat estrous cycle. *Endocrinol. Japan,* suppl. n° 1, p. 83.

Montesano (R.) et Magee (P.N.). 1971. Evidence of formation of N-methyl-N-nitrosourea in rats given N-methylurea and sodium nitrite. *Intern. Journal Cancer,* t. 7, pp. 249-255.

Morgan (J.E.), Guerin (L.F.) et Morton (H.I.). 1956. The effect of low temperature and storage of the viability and mouse strain specificity of ascitic tumor cells. *Cancer Research,* t. 16, pp. 907-914.

Mutermilch (S.) et Salomon (M^lle^). 1929 a. Formations locales des antitoxines dans le liquide céphalo-rachidien. *C.R. Ac. Sc.* (Paris), t. 188, pp. 205-206.

Mutermilch (S.) et Salomon (M^lle^). 1929 b. Sur l'immunité méningée passive et active. *C.R. Soc. Biol.,* 14 nov., p. 696 (selon auteurs).

Nicoli (R.M.), Plassé (G.), Sempé (M.) et Erlich (P.). 1969. Une investigation facile et fidèle : l'examen extemporané du contenu vaginal. *Rev. franç. de Gynécol. et d'Obstétr.,* t. 64, n° 7-8, pp. 397-399.

Nussbaum (J.L.), Bieth (R.) et Mandel (P.). 1963. La répartition des phospholipides dans les mitochondries, les microsomes et les gaines de myéline du cerveau de rat. *Congrès de Chimie biol.*

Strasbourg, 19-21 sept. 1963. P.V. des séances in : *Bull. Soc. Chimie biol.,* 1964, t. 66, n° 1, pp. 3-4.

Oberling (Ch.) et Bernhard (W.). 1961. The morphology of the cancer cells. In : The cell, t. 5, New York, London, Academy Press.

O'Gara (R.W.), Stewart (L.), Brown (J.) et Hueper (W.C.). 1969. Carcinogenicity of heated fats and fat fractions. *J. nat. Cancer Institut,* t. 42, n° 2, pp. 275-288 .

Oyasu (R.), Battifora (H.A.), Clasen (R.A.), Mc Donald (J.H.) et Hass (G.M.). 1970. Induction of cerebral gliomas in rats with dietary lead subacetate and 2-acetylamino fluorene. *Cancer Research,* t. 30, n° 5, pp. 1248-1255.

Pappas (G.D.). 1970. Some morphological considerations of the blood-brain barrier. *Journal of the neurological Sciences* (Amsterdam), t. 10, n° 3, pp. 241-246.

Pasternak (L.). 1963. Untersuchungen über die mutagene wirkung von nitrosaminen und nitrosomethylharnstoff. *Acta biol. med. germ.,* t. 10, pp. 436-438.

Peers (J.H.). 1939. The response of the central nervous system to the application of carcinogenic hydrocarbons. I. Dibenzanthracene. *American Journal of Pathology,* t. 15, pp. 261-276.

Penfield (W.). 1931. The classification of gliomas and neuroglia cell types. *Archiv. neurol. Psychiatr.,* t. 26, pp. 745-753.

Pepeu (G.), Bartolini (A.) et Bartolini (R.). 1970. Differences of gaba content in the cerebral cortex of cats transected at various midbrain levels. *Biochemical Pharmacology,* t. 19, n° 3, pt 2, pp. 1007-1013.

Péquignot (H.), Dormont (J.), Etienne (J.P.), Laurent (D.), Liot (F.), et Magdelaine (M.). 1966. Précis de pathologie médicale. T. VIII. Système nerveux, psychiatrie. 742 p., Masson, Paris.

Petel (R.). 1934. De la barrière hémato-méningo-encéphalique « Perméabilité méningée ». *Thèse Médec. Toulouse,* 176 p.

Pfeiffer (C.C.), Hallman (L.F.) et Gersh (J.). 1945. Boric acid ointment : a study of possible intoxication in the treatment of burns. *Journ. american medic. Assoc.,* t. 129, n° 1, pp. 266-274.

Pigeaud (H.), Dechaume (J.), Dumont (M.) et Gabriel (H.). 1951. Tumeur cérébrale : aggravation considérable des symptômes en fin de grossesse ; amélioration transitoire après césarienne. *Gynécol. et Obstétr.,* t. 3, n° 4, p. 648.

Pitet (C.), Oustrin (J.), Clavel (M.J.) et Caujolle (R.). 1968. Dosage spectrographique du bore dans les échantillons biologiques. Application à l'étude des organo-boriques. *8e Congrès de la Soc. de Pharm. de la Méditerranée latine,* Grenade, 16-18 mai 1968. [Voir aussi Mariotti 1970, pp. 61-64.]

Planques (J.). 1931. Contribution à l'étude de la perméabilité méningée à l'absorption. *Thèse Médec. Toulouse.*

Polonovski (M.), Boulanger (P.), Macheboeuf (M.) et Roche (J.). 1968. Biochimie médicale. 8e édition par Boulanger (P.), Polonovski (J.), Tayeau (F.), Mandel (P.) et Biserte (G.), fasc. 3, 740 p., Masson, Paris.

Quevauviller (A.). 1956. Localisation expérimentale de l'action des médicaments aux différents étages du système nerveux autonome. *Journées pharmaceutiques franç.*, Confér. de la Soc. de Technique pharmaceutique, fasc. 12, 18 p.

Reinberg (A.). 1966. L'homme et les rythmes circadiens. *Cahiers Sandoz*, n° 6 (nov.), pp. 3-51.

Reinberg (A.). 1970. La chronobiologie, une nouvelle étape de l'étude des rythmes biologiques. *Sciences* (Revue de l'A.F.A.S.), t. 1, n° 4, pp. 181-187.

Reinberg (A.) et Ghata (J.). 1964. Les rythmes biologiques. Seconde édition. 128 p., Presses univers. franç.

Riser (C.). 1929. Le liquide céphalo-rachidien. 250 p., Masson, Paris.

Riser et Mériel. 1927. La glycorachie, son mécanisme. Contribution à l'étude de la perméabilité méningée. *Presse médicale*, p. 1437.

Roussy (G.), Lhermitte (J.) et Cornil (L.). 1924. Essai de classification des tumeurs cérébrales. *Annal. d'Anat. path. méd. chir.*, t. 1, p. 333.

Savidan (L.). 1970. La chromatographie. 3e édition. 130 p., 35 fig., Dunod, Paris.

Schiffer (D.), Fabiani (A.), Grossi-Paoletti (E.) et Paoletti (P.). 1970. Experimental brain tumours induced in rats by nitrosourea derivatives. Part 1. Morphological aspects of methylnitrosourea tumours. *Journal of neurological Sciences, Amsterdam*, t. 11, n° 6, pp. 559-572.

Schneider (G.). 1970. Zur technik der intraperitonealen injektion bei der ratte. *Z. Versuchstierkunde*, t. 12, n° 1-2, pp. 16-19.

Schreiber (D.), Jänisch (W.), Scholtze (P.) et Tausch (H.). 1968. Experimentelle tumoren des zentralnervensystems. *Die Naturwissenchaften*, t. 55, p. 495.

Schulz (H.). 1957. Elektronenmikroskopische untersuchungen einer mammakarzinoms der ratte. *Oncologia* (Bâle), t. 10, pp. 307-329.

Scmidek (H.H.), Nielsen (S.L.), Schiller (A.L.) et Messer (J.). 1971. Morphological studies of rat brain tumors induced by N-nitrosomethylurea. *Journal of Neurosurgery*, t. 34, n° 3, pp. 335-340.

Sehrbundt (H.J.), Mennel (H.D.), Wechsler (W.) et Zulch (K.J.). 1970. Experimental carcinogenesis in the nervous system with N-nitroso-compounds. *Acta neurologica* (Napoli), t. 25, pp. 469-475.

Seligman (A.M.) et Shear (M.J.). 1939. Studies in carcinogenesis. VIII. Experimental production of brain tumors in mice with methylcholanthrene. *The american Journal of Cancer*, t. 37, pp. 364-395.

Sherman (G.P.). 1970. A possible determinant of drug action. The blood brain barrier. *Amer. Journ. Pharmac.*, t. 142, n° 3, pp. 127-133.

Siou (G.) et De La Grancière (M.P.). 1969. Caractères quantitatifs de la gestation chez la souris, le rat et le lapin. *Rev. Pathol. comp. Med. exper.*, t. 6, pp. 375-387.

Snell (K.C.), Stewart (H.L.), Morris (H.P.), Wagner (B.P.) et Ray (F.E.). 1961. Intracranial neurilemmoma and medulloblastoma induced in rats by the dietary administration of N,N'-2,7-fluorenylenebisacetamide. *Nat. Cancer Institut. Monogr.*, t. 5, pp. 85-103.

Soloway (A.H.). 1958. Correlation of drug penetration of brain and chemical structure. *Science, Washington*, t, 128, pp. 1572-1574.

Soloway (A.H.). 1964. Boron compounds in cancer therapy. *Progress in Boron Chemistry*, t. 1, pp. 203-234.

Soloway (A.H.), Brownell (G.L.), Ojemann (R.G.) et Sweet (W.H.). 1964. Boron-slow neutron capture therapy : present status. *Euratom*, preparation a bio-medical application of labelled molecules, pp. 383-403.

Soloway (A.H.), Whitman (B.) et Messer (J.R.). 1960. [Pénétration du cerveau et de la tumeur cérébrale par des composés aromatiques en tant que fonction des substituants moléculaires.] *Journal of Pharmacology*, t. 129, pp. 310-314.

Spanner (Sheila) et Ansell (G.B.). 1970. The use of zonal centrifugation in the preparation of subcellular fractions from brain tissue. *Proceedings of the Biochemical Society*, t. 117, n° 9, p. 45.

Stavrou (D.). 1970. Morphology and enzyme histochemistry of experimental brain tumors in rats. I. Morphological findings. II. Enzyme histochemical findings. *Acta neuropathologica*, t. 15, n° 3.

Steinwall (O.) et Olsson (Y.). 1969. Impaisment of the blood-brain barrier in mercury poisoning. *Acta neurologica scandinavica* (Danemark), t. 45, n° 3, pp. 351-361.

Stern (Edw.). 1936. Culture des tissus et cancer. *Thèse Univ. Médec. Paris*, 136 p., Vigot, Paris.

Stern (L.). 1923 a. La barrière hémato-encéphalique dans les conditions normales et dans les conditions pathologiques. *Schweizer. Archiv. für Neurol. und Psychol.*, t. 13, p. 604.

Stern (L.). 1923 b. La barrière hémato-encéphalique en physiologie et en clinique. *Schweizer. Medic. Wochenschr.*, p. 792.

Stern (L.) et Gautier. 1921. Les rapports entre le liquide céphalo-rachidien et la circulation sanguine. *Archiv. internat. de Physiologie*, p. 138.

Stern (L.) et Gautier. 1922. Les rapports entre le liquide céphalo-rachidien et les éléments nerveux de l'axe cérébrospinal. *Archiv. internat. de Physiologie*, p. 391.

Stern (L.) et Gautier. 1923. Les rapports entre le liquide céphalo-rachidien des espaces ventriculaires et celui des espaces sous-arachnoidiens. *Archiv. internat. de Physiologie*, p. 403.

Stern (L.) et Lokchina (E.). 1927 a. Effets de la grossesse sur le fonctionnement de la barrière hémato-encéphalique. *C.R. Soc. Biol.*, t. 97 (2e de l'année), pp. 643-644.

Stern (L.) et Lokchina (E.). 1927 b. La résistance de la barrière hémato-encéphalique vis-à-vis des colloïdes et des cristalloïdes chez les nouveaux-nés empoisonnés par l'alcool. *C.R. Soc. Biol.*, t. 97 (2e de l'année), p. 646.

Stern (L.) et Lokchina (E.), 1927 c. Effet de l'empoisonnement par l'oxyde de carbone (gaz d'éclairage), l'hydrogène sulfuré et l'acide cyanhydrique sur le fonctionnement de la barrière hemato-encéphalique. *C.R. Soc. Biol.*, t. 97 (2e de l'année), pp. 647-648.

Stern (L.), Lokchina (E.) et Falk (R.), 1927. Effet de l'empoisonnement par CO sur le fonctionnement de la barrière placentaire. *C.R. Soc. Biol.*, t. 97 (2e de l'année), pp. 640-641.

Stern (L.) et Peyrot (R.), 1927. Le fonctionnement de la barrière hémato-encéphalique aux divers stades de développement chez les diverses espèces animales. *C.R. Soc. Biol.*, t. 96 (1e de l'année), pp. 1124-1126.

Stern (L.) et Rapoport (J.), 1927. La résistance de la barrière hémato-encéphalique au passage des colloïdes du sang dans le liquide céphalo-rachidien aux divers stades de développement chez les diverses espèces animales. *C.R. Soc. Biol.*, t. 96 (1e de l'année), pp. 1149-1152.

Stern (L.), Rapoport (J.) et Kremlew (L.), 1927. Effet de la thyridectomie et de la castration sur le fonctionnement de la barrière hémato-encéphalique. *C.R. Soc. Biol.*, t. 97 (2e de l'année), pp. 644-645.

Stern (L.), Slatowickrow et Kremlew (L.), 1927. Influence de divers facteurs physiologiques et pathologiques sur le fonctionnement de la barrière hémato-encéphalique. *C.R. Soc. Biol.*, t. 96 (1e de l'année), p. 453.

Stock (J.A.), 1967. Other antitumor agents [autres que les hormones et les agents alkylants]. *Experimental Chemotherapy*, t. 5, pp. 333-416 (400 références).

Stroobandt (G.) et Brucher (J.M.), 1968. Etude de tumeurs nerveuses obtenues par l'administration de methylnitrosouree au rat. *Neurochirurgie* (Paris), t. 14, n° 4, pp. 515-535.

Sugiura (Kanem.), 1967. Effect of 1,3-bis (2-chloroethyl)-1-nitrosourea (NSC-409 962) and two related compounds on a spectrum of tumors. *Cancer Research*, t. 27, pp. 179-189.

Sweet (W.H.), Soloway (A.H.) et Brownell (G.L.), 1963. [Thérapeutique des gliomes utilisant la capture de neutrons lents par le bore.] *Acta radiologica*, t. 1, n° 2, pp. 114-121.

Symposium on the blood-brain barrier, held 11 september 1968 in New York, 1970. *Journal of the neurological Sciences* (Amsterdam), t. 10, n° 3, pp. 201-337.

Terracini (B.) et Testa (M.C.), 1970. Carcinogenicity of a single administration of N-nitrosomethylurea : a comparison between newborn and 5 week old mice and rats. *British Journal of Cancer*, t. 24, n° 3, pp. 588-598.

Thomas (C.) et Kersting (G.), 1964. Zur morphologie der durch methylnitrosoharnstoff erzeugten hirntumoren bei der ratte. *Die Naturwissenschaften*, t. 51, pp. 144-145.

Thomas (C.), Sierra (J.L.) et Kersting (G.), 1967. Hirntumoren bei ratten nach oraler gabe von N-nitroso-N-methyl-harnstoff. *Die Naturwissenschaften*, t. 54, p. 228.

Thomas (C.), Sierra (J.L.) et Kersting (G.). 1968. Neurogene tumoren bei ratten nach intraperitonealer applikation von N-nitroso-N-methyl-harnstoff. *Die Naturwissenschaften*, t. 55, p. 183.

Torssell (K.). 1964. The chemistry of boronic and borinic acids. In : *Progress in Boron Chemistry*, t. 1, pp. 369-415. Cf pp. 378-381.

Totsuka (S.). 1963. Experimental studies on the histogenesis of meningeal sarcoma and intracerebral transplantation of tumours. *J. Chiba Med. Soc.*, t. 39, n° 1, pp. 10-22.

Truhaut (R.), Boudene (C.) et Nguyen-Phu-Lich. 1966. Sur le microdosage colorimétrique du bore. Etude analytique d'une réaction et application au dosage dans les milieux biologiques. *Bull. Soc. chim. Fr.*, n° 8, p. 2551.

Turkington (R.W.). 1969. Hormonal regulation of transfer ribonucleic acid and transfer ribonucleic acid-methylating enzymes during development of the mouse mammary gland. *Journal of biological Chemistry* (U.S.A.), t. 244, pp. 5140-5148.

Unio internationalis contra cancrum. 1959. Histologische nomenklatur menschlichen tumoren. *Z. Krebsforschung*, t. 63, pp. 75-98.

Unio internationalis contra cancrum. 1969. Illustrierte tumor-nomenklatur. 1e édit. 1965, 2e édit. 1969, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.

Van Haelst (U.J.G.M.) et Swaen (G.J.V.). 1963. Résultats de l'application intercérébrale de methylcholantrène chez les souris. *Bull. de l'Assoc. franç. pour l'étude du cancer*, t. 50, n° 4, pp. 659-669.

Vesell (Elliot S.). 1967. Induction of drug-metabolizing enzymes in liver microsomes of mice and rats by softwood bedding. *Science*, t. 157, pp. 1057-1058.

Vizet (J.). 1971. Contribution à une étude plus précise des relations de perméabilité de la barrière hémo-encéphalique et de l'activité du système acylcholine-cholinestérase. *Biologie médicale*, t. 60, n° 1, pp. 80-92.

Von Monakow (C.). 1921. Der kreislauf des liquor cerebrospinalis. *Schweizer. Archiv. für Neurol. und Psychol.*, p. 233.

Walter (F.K.). 1919. Untersuchungen über die permeabilität der meningen. *Neurol. Zentr.*, p. 380.

Walter (F.K.). 1926. Wo entsteht der liquor cerebrospinalis? *Deutsche Z. nervenheilk*, p. 161.

Walter (F.K.). 1929. Die blut liquorschranke. 1 vol., Georg Thieme, Leipzig.

Walters (M.A.) et Roe (F.J.C.). 1964. The effect of dietary casein on the induction of lung tumours by the injection of 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA) into newborn mice. *British Journal of Cancer*, t. 18, n° 2, pp. 312-316.

Waterhouse (G.R.). 1839. Description of a new species of hamster (Cricetus auratus). *Proceedings of the zoological Society* (London), t. 7, pp. 57-58.

Wechsler (W). 1963. Elektronenmikroscopische untersuchung eines experimentelle erzeugten intrakraniellen sarkoms der albinomaus. *Acta neuropathologica* (Berlin), t. 3, n° 2, pp. 119-136.

Weil (A.). 1938. Experimental production of tumors in the brains of white rats. *Archives of Pathology,* t. 26, pp. 777-790.

Weiss (F.), Grossi Paoletti (E.), Paoletti (P.), Schiffer (D.) et Fabiani (A.). 1970. Occurrence of desmosterol in tumors of the nervous system induced in the rat by nitrosourea derivatives. *Cancer Research,* t. 30, pp. 2107-2109.

Wepierre (J.) et Lindenbaum (A.). 1971. Perméabilité des barrières physiologiques à l'égard des médicaments. *Symposium sur les progrès des techniques nucléaires en pharmacodynamie,* 1970, pp. 143-152, Masson, Paris.

Wong-Chia (C.) et Cancino (Flor de M.). 1961. Carcinogenesis experimental. III. Transplantabilidad de un tumor producido en rata wistar con 7,12-dimentilbenzo (o) anthraceno. *Boletin del Instituto de Estudios medicos y biologicos* (Mexico), t. 19, n° 3, pp. 207-213.

Zand (N. Zilberlast-). 1924. Rôle protecteur de la pie-mère et des plexus choroïdes. *Revue neurologique,* p. 235.

Zand (N. Zilberlast-). 1926. Perméabilité des méninges enflammées. *C.R. Soc. Biol.,* t. 94, pp. 548-549.

Zand (N. Zilberlast-). 1930. Les plexus choroïdes. 1 vol., Masson, Paris.

Zand (N. Zilberlast-). 1930. La microglie et les histiocytes. *Annal. d'Anatom. pathol.,* n° 5.

Zand (N. Zilberlast-). 1931. La barrière protectrice méningée et le système réticulo-endothélial. *Revue neurologique,* n° 4 (Congrès neurolog. internat. 1931).

Zimmerman (H.M.) et Arnold (H.). 1941. Experimental brain tumors. I. Tumors produced with methylcholanthrene. *Cancer Research,* t. 1, n° 12, pp. 919-938.

Zimmerman (H.M.) et Arnold (H.). 1955. Experimental brain tumors. II. Tumors produced with benzpyrene. *American Journal of Pathology,* t. 19, pp. 939-985.

Zülch (K.J.). 1969. The newest development of experimental induced tumors of the central nervous system. *Journal de Génétique humaine* (Genève), t. 17, n° 3-4, pp. 511-529.

TABLE DES FIGURES

Fig. 1. — Evolution de la localisation du bore dans le liquide céphalo-rachidien et dans le sang des rats normaux, pour les acides o, m, p. tolylboroniques 33

Fig. 2. — Evolution de la localisation du bore dans le cerveau et dans le sang des rats normaux, pour chacun des acides o, m, p. tolylboroniques 57

Fig. 3. — Homogénat de cerveau de rat : sédiment 1. — Photographie au microscope électronique, gross. × 17 000 65

Fig. 4. — Homogénat de cerveau de rat : sédiment 2. — Photographie au microscope électronique, gross. × 33 200 67

Fig. 5. — Homogénat de cerveau de rat : sédiment 3. — Photographie au microscope électronique, gross. × 33 200 69

Fig. 6. — Evolution comparative de la localisation cérébrale sub-cellulaire du bore dans les sédiments d'ultra-centrifugation s1, s2, s3 (représentation dans l'espace) 71

Fig. 7. — Chromatographie monodimensionnelle de référence : de solutions-témoins de metatolylboronate de sodium, de metacarboxyphénylboronate, d'acide borique, — et de deux extraits (1 et 2) d'homogénats de cerveau 81

Fig. 8. — Récapitulation synoptique des diverses chromatographies monodimensionnelles, obtenues successivement avec les homogénats de cerveau, suivant les diverses échéances après l'injection de metatolylboronate de sodium 83

Fig. 9. — Récapitulation synoptique des diverses chromatographies monodimensionnelles, obtenues successivement avec le sang, suivant les diverses échéances après l'injection de métatolylboronate de sodium 88

Fig. 10. — Courbe de croissance du poids moyen des sujets, entre le 1er et le 74e jour de l'expérimentation par la methyl-nitroso-urée.. 110

Fig. 11. — Courbe de croissance du poids moyen des sujets, entre le 75e et le 155e jour de l'expérimentation par la methyl-nitroso-urée 111

Fig. 12. — Tumeur multinodulaire du colon ascendant et transverse. Rat mâle, sacrifié après 108 jours de traitement par la méthyl-nitroso-urée 115

Fig. 13. — Oligodendrogliome intra-cérébral. Rat mâle, sacrifié après 140 jours de traitement par la méthyl-nitroso-urée 117

Fig. 14. — Tumeur arrondie, encapsulée, très vascularisée, localisée entre les deux nerfs optiques hypertrophiés. Rat mâle, sacrifié après 121 jours de traitement par la méthyl-nitroso-urée 119

Fig. 15. — Evolution de la localisation du bore dans la lymphe, pour chacun des trois acides o,m,p. tolylboroniques 133

TABLE DES MATIERES

Avant-propos 5

PREMIERE PARTIE. — **TECHNIQUES GENERALES** 9

CHAPITRE I. — **Techniques chimiques** 11

Les substances expérimentées 11

Le dosage du bore par spectrographie d'émission 14

CHAPITRE II. — **Techniques biologiques** 16

Les animaux d'expérimentation 16

Rat blanc Wistar 16. — Autres espèces utilisées 18

La toxicité des acides tolylboroniques 19

Toxicité des acides ortho- et paratolylboroniques 20

Détermination de la toxicité de l'acide metatolylboronique 22

Symptomatologie 22. — Comparaisons symptomatologiques 24, — entre la voie entérale et la voie péritonéale 24, — entre la Souris et le Rat 24. — Résultats sur la toxicité 25.

Toxicité comparée des trois acides tolylboroniques .. 25

DEUXIEME PARTIE. — **BORE ORGANIQUE ET SYSTEME NERVEUX CENTRAL** 27

CHAPITRE I. — **Non-passage du bore dans le liquide céphalo-rachidien du rat normal** 29

Méthodes de prélèvement par ponction 29

Ponction ventriculaire 29, — Ponction sous-occipitale ou atlo-occipitale 29. — Ponction lombaire 30.

Variations éventuelles suivant les points de prélèvement 31

Expérimentation sur animaux normaux 32

CHAPITRE II. — **Diffusion du bore dans le liquide céphalo-rachidien des rattes gestantes** 35

Techniques biologiques 35

Méthode des frottis vaginaux 35, prélèvement 36, coloration 36. — Phases du cycle : leur détermination 37. — Obtention d'un nombre suffisant de gestantes 38. — Remarque sur la valeur des prélèvements 39.

Expérimentation sur rattes-témoins non-gestantes 39

Utilité de témoins 39. Résultats 39. — Complément sur le sang de la région méningée 40. — Cas probant d'un témoin occasionnel 40.

Expérimentation sur les rattes gestantes 41

Influence de la gestation sur le passage du bore dans le liquide céphalo-rachidien 42

CHAPITRE III. — **Non-diffusion du bore dans le liquide céphalo-rachidien du lapin normal** 44

Technique 44

Résultats 45

Conclusions 46

CHAPITRE IV. — **Diffusion du bore dans le liquide céphalo-rachidien de la lapine gestante** 47

Technique 47

Résultats 47

Conclusions 48

CHAPITRE V. — **Localisation cérébrale du bore** 49

Recherches antérieures 49

Experimentation et résultats 53

Techniques 53. — Résultats : variations et moyennes 54.

Dosage comparatif dans le sang 55

Rapport entre les concentrations dans le cerveau et dans le sang total 58

Conditions de la pénétration cérébrale du bore 59

Comportements comparés des divers isomères 60. — Conditions adjuvantes de la circulation cérébrale artérielle 60.

CHAPITRE VI. — **Localisations dans le cerveau à l'échelle des structures subcellulaires** 62

Methodes d'étude 62

Technique de l'homogénat 62

Centrifugation de l'homogénat 63

Ultracentrifugations successives : les sédiments 64

Composition des sédiments 66.

Vérification de la composition corpusculaire des sédiments 66

Dosage du bore dans les sédiments 68

Résultats des expérimentations 68

Variations individuellles 70

Forme de localisation intra-cellulaire 72.

Influence de la nature chimique du composé boronique sur le cantonnement dans le cerveau 73

TROISIEME PARTIE. — **METABOLISME DES ORGANOBORIQUES** 75

CHAPITRE I. — **Défixation du bore fixé au niveau du cerveau** 77

Travaux antérieurs 77

Techniques de l'homogénat soumis à la chromatographie 79

Résultats des expérimentations et des chromatographies correspondantes 82

Conclusions 84

Conditions générales dans le cas d'administration unique 85.

CHAPITRE II. — **Evolution parallèle du bore sanguin** 87

Technique 87

Résultats des expérimentations et des chromatographies correspondantes 89

Discussion 90

QUATRIEME PARTIE. — **RECHERCHES SUR LA LOCALISATION DU BORE DANS LE CERVEAU PATHOLOGIQUE (TUMEUR CEREBRALE)** 91

CHAPITRE I. — **Bore et tumeur cérébrale** 93

Aspects préliminaires 93

Principe de la méthode de traitement des tumeurs cérébrales de l'Homme par le bore radio-actif 95

Recherches expérimentales à but thérapeutique 95

Position actuelle du problème 97

CHAPITRE II. — **Le matériel de recherche: tumeurs cérébrales expérimentales du Rat** 99

Produits de combustion des matières organiques, goudrons et dérivés 100

Un exemple de technique avec le DMBA : celle de Wong-Chia et de Cantino 101. — Un exemple de technique par implantation cérébrale directe : celle de Caputo et Giovanella 102.

Substances organiques azocomposées 102

Un exemple de technique avec la methylnitrosourée : celle de Stroobandt et Brucher 105.

Produits anti-tumoraux 106

CHAPITRE III. — **Localisation du bore dans les tumeurs expérimentales du Rat** 107

Essais accomplis 107

Préparation du produit 107. — Mise en expérience 108.

Evolution des sujets traités 108

Symptômes au cours de l'expérimentation 108. — Mortalité par phénomènes pulmonaires précoces 108. — Marques extérieures 109. — Symptômes de déclin 109. — Symptômes d'évolution pathologique ultime 109. — Evolution du poids au cours de l'expérimentation 112.

Résultats 113

Sur les formes tumorales réalisées par notre expérimentation avec la methyl-nitroso-urée 116

Discussion sur les teneurs en bore obtenues dans les tumeurs cérébrales 120

Liste des sujets à tumeurs provoquées du cerveau 120. — Comparaisons des échéances entre elles 120. — Comparaison par rapport au cerveau normal 121. — Commentaire sur les conditions de la fixation du bore 121.

CINQUIEME PARTIE. — **BORE ORGANIQUE ET LYMPHE** ... 125

CHAPITRE I. — **Diffusion du bore dans la lymphe** 127

Techniques par canulation du canal thoracique abdominal 127

Incision 127. — Dégagement 128. — Cathétérisme 128. — Fixation de la canule 128.

Mode opératoire 129

Résultats des expérimentations 130

Comportement de la lymphe comparé à celui du sang 132

Conclusions générales 135

Index bibliographique 138

Table des figures 153

Table des matières 155

Vu, le 12 mai 1971
Le Président du Jury,
F. CAUJOLLE

Vu :
Le Directeur de l'U.E.R.
des Sciences pharmaceutiques,
J. BREUILLAUD

Vu et Permis d'imprimer, le 19 mai 1971
Le Président de l'Université Paul-Sabatier
L. LARENG

J.F. Editions-Impressions
14, rue Idrac — Toulouse
6-1971 - 9699